

ANNEE 1981

N° 27

**EFFETS CANCEROGENES ET IMMUNOLOGIQUES
DES POLYCHLOROBIPHENYLES (P.C.B.);
ETUDE DE LEUR ACTION
SUR LA SENSIBILITE DE LA SOURIS
A L'ASCITE TUMORALE D'EHRlich.**

THESE

PRESENTEE

A L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD DE LYON

MEDECINE - PHARMACIE

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 27 AVRIL 1981
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VETERINAIRE

PAR

MICHEL PEPIN

NE LE 16 Août 1956 A LE MESNIL-BUS - Manche -



CERCLE BOURGELAT
ENVL

ANNEE 1981

N°

**EFFETS CANCEROGENES ET IMMUNOLOGIQUES
DES POLYCHLOROBIPHENYLES (P.C.B.);
ETUDE DE LEUR ACTION
SUR LA SENSIBILITE DE LA SOURIS
A L'ASCITE TUMORALE D'EHRlich.**

THESE

PRESENTEE

A L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD DE LYON

MEDECINE - PHARMACIE

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 27 AVRIL 1981

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VETERINAIRE

PAR

MICHEL PEPIN

NE LE 18 Août 1956 A LE MESNIL-BUS -Manche-



CERCLE BOURGELAT

ENVL



1.12.1950

ETAT DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT EN FONCTION A L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON
 Directeur : Professeur Ph. COTTEREAU

C H A I R E S	Professeurs	Professeurs sans chaire	Maîtres de conférences 11 postes	Maîtres Assistants Agrégés	Maîtres Assistants 20 postes	Assistants
Alimentation		M. JEAN-BLAIN	-	-	-	M. GRANCHER
Anatomie	M. BARONE	-	-	-	M. DENOIX	M. DELTOUR
Chirurgie	M. COULON	M. LE NIHOUMANNEN	-	-	M. FAU	M. DULAC
Histologie - Anatomie	M. TISSEUR	M. CASTELLU	-	-	-	Mme GRANCHER GRANCHER
Pathologie						
Hygiène et Industrie des aliments d'origine animale	M. CHANTREPRELET	-	-	-	M. DEMONT	M. DRICHONY
Maladies contagieuses	M. JOUBERT	M. PRAVE	-	-	M. CHOMEL	M. DUCLOS
Parasitologie	M. EUZEBY	-	M. GEVREY	-	Mme CHAUVÉ	M. NGO TAN H
Pathologie générale - Microbiologie - Immunologie	M. OUDAR	-	M. RICHARD	-	M. EUZEBY	M. GUERIN
Pathologie médicale du travail et des animaux de basse-cour	M. COTTEREAU	-	Mme BRUCETE	-	-	M. THIN
Pathologie médicale des équidés et des carnivores						
Pathologie de la reproduction	M. FONTAINE	M. LAPRAS	-	M. LEGAY	-	R. EOUVIER
Pharmacie-Toxicologie	M. BERTRAND	M. DESCHANEL	-	-	Mme RACHAÏL	M. PEPIN
Physiologie	M. LONGUE	-	M. KECK	-	M. CAUSSAUD	Mme PEPIN
Physiologie-Chimie	M. BOST	M. BOUVIN	-	-	-	M. THIEBAULT
Zootéchnie	M. DELATOUR	-	-	-	M. CARNIER	Mlle MARTIN
	M. FROGET	-	M. FRANCK	-	Mlle COURSAT	-
C.F.T.S.V.	M. FLACHAT					
	14	7	5	1	10	14

Maîtres Assistants : 20 postes budgétaires (15 postes "organiques" soit 1 par Chaire

JURY DE THESE

PRESIDENT DU JURY

Monsieur le Professeur MAYER
de la Faculté de Médecine de LYON.

1er ASSESSEUR

Monsieur KECK,
Maître de Conférences
à l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON.

2ème ASSESSEUR

Monsieur le Professeur BERTRAND
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON.

A MONSIEUR KECK G.

Maître de Conférences de Pharmacie Toxicologie à l'Ecole Nationale
Vétérinaire de LYON,

que nous remercions pour son aide et ses conseils. Qu'il trouve
ici l'expression de notre reconnaissance.

A MONSIEUR CASTELLU J.

Professeur sans Chaire d'Histologie - Anatomie pathologique à
l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON,

que nous remercions pour son aide et ses conseils. Qu'il trouve
ici l'expression de notre reconnaissance.

AU LABORATOIRE DE PHARMACIE-TOXICOLOGIE DE L'ECOLE NATIONALE
VETERINAIRE DE LYON,

grâce à qui ce travail a pu être mené à bien.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554221_0006

- S O M M A I R E - ---

Avant-Propos.

Introduction.

PREMIERE PARTIE

I - Les PCB : données bibliographiques générales.

- 1 - Structure et préparation.
- 2 - Propriétés physicochimiques.
- 3 - Applications industrielles et sources de contamination.
- 4 - Devenir dans les milieux naturels.
 - Transport et distribution dans le milieu abiotique.
 - Transport et distribution liés aux facteurs biologiques.
- 5 - Toxicologie des PCB.
 - * Cinétique des PCB dans l'organisme.
 - Absorption.
 - Distribution dans l'organisme.
 - Biotransformations.
 - Elimination.
 - Passage transplacentaire.
 - Passage dans les oeufs.
 - Influence de la structure sur la rétention.
 - * Toxicité des PCB.
 - Toxicité clinique.
 - Effets à long terme des PCB.
 - . Action des PCB sur les fonctions hépatiques.
 - . Action des PCB sur les fonctions de reproduction.
 - . Effets cancérogènes des PCB.
 - . Effets immunodépresseurs des PCB.

DEUXIEME PARTIE.

II - Rappels sur les mécanismes de l'immunité antitumorale.

- 1 - Antigénicité nouvelle des cellules cancéreuses.
 - Rappel sur les antigènes d'histocompatibilité.
 - Etude des cancers expérimentaux.
 - Etude des cancers spontanés.
- 2 - Les deux mécanismes de défense de l'organisme à l'égard d'une tumeur.
 - L'immunité spécifique.
 - L'immunité non spécifique.
- 3 - Les mécanismes d'échappement.
 - Facteurs tenant à la tumeur.
 - . Pouvoir immunogène et vitesse de croissance.
 - . L'immunosélection.
 - Facteurs tenant à l'hôte.
 - . Tolérance immunitaire.
 - . L'immunodépression.
 - . La facilitation immunologique.

Bilan.

TROISIEME PARTIE.

III - Etude des effets cancérigènes des PCB chez la souris et des effets de la contamination par le DP 5 sur la sensibilité de la souris à une tumeur : l'ascite tumorale d'ERLICH.

- 1 - Protocole expérimental.
 - Choix de l'espèce animale.
 - Choix de la tumeur expérimentale :
 - Caractéristiques et avantages de l'ascite tumorale d'ERLICH.
 - Matériel et méthodes.
 - . Animaux d'expérimentation.
 - . Supplémentation de l'aliment en DP5.

- 2 - Etude des effets cancérogènes du DP 5 chez la souris.
 - Méthodes d'études.
 - Résultats.
 - . Nombre de tumeurs observées dans les différents lots.
 - . Examens histopathologiques.
 - Discussion.
 - . Etudes épidémiologiques chez l'homme.
 - . Comparaison du pouvoir cancérogène des PCB avec celui des autres organochlorés.
 - . Mode d'action des cancérogènes chimiques. Application à l'étude du mode d'action des PCB.
 - . Bilan.
- 3 - Effets de la contamination par le DP 5 sur le développement de la tumeur d'EHRLICH chez la souris.
 - Méthodes d'études : technique de transplantation de la tumeur
 - Résultats.
 - . Evolution chronologique de la tumeur sous-cutanée.
 - . Mortalité observée.
 - Interprétation des résultats.
 - . La croissance tumorale.
 - . Le rejet des tumeurs.
 - . La mortalité.
 - Discussion.
 - . Les effets immunodépresseurs des PCB.
 - . Les relations PCB - cancer.
 - . Bilan : mode d'action des PCB.

Conclusions.

- A V A N T - P R O P O S - ---

Les polychlorobiphényles (PCB) sont à présent bien connus comme micropolluants, et la contamination importante des milieux naturels, des animaux domestiques et de l'homme pose le problème de leurs effets à long terme (89-92), (47-94). Parmi ceux-ci, l'effet immunodépresseur des PCB est, sans doute, l'un des plus intéressants à envisager pour de nombreuses raisons, tant sur le plan de la santé humaine que sur celui de la santé animale. Il est donc intéressant de rechercher l'étiologie des ruptures d'immunité dans l'incidence des maladies bactériennes ou virales chez l'homme ou les animaux, ou dans le développement des tumeurs cancéreuses ou bénignes.

Les travaux réalisés à ce sujet montrent la réalité des effets immunodépresseurs des PCB (102 - 28) ; il semblait donc opportun d'effectuer une étude globale et précise du pouvoir immunodépresseur de ces composés, ce qui est le but du travail qui a été entrepris au Laboratoire de Toxicologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON. La contamination expérimentale a été réalisée comme suit :

Les animaux traités (des souris SWISS) ont reçu dans leur alimentation des doses différentes d'un PCB commercial, le DP 5, choisi en raison de sa présence quasi permanente dans les échantillons biologiques ; trois doses de PCB ont été administrées dans la ration alimentaire sur des périodes de trois mois :

- une dose forte : 250 ppm,
- une dose intermédiaire : 50 ppm,
- une dose faible de 10 ppm.

Différents tests immunologiques standardisés ont été mis en oeuvre afin de pouvoir analyser des effets globaux sur les systèmes immunitaires, puis des effets plus spécifiques (immunité humorale et cellulaire) :

- effet hypoplasique sur les organes lymphoïdes périphériques et centraux (rate, ganglion, thymus) par pesée des organes et analyse histopathologique,

- appréciation de l'activité du système phagocytaire par le test au carbone colloïdal,
- effets sur la résistance à des infections bactériennes et virales. Les souches bactériennes ou virales doivent, alors être adaptées à l'infection de la souris et de pouvoir infectieux titré : souche de *Klebsiella pneumoniae*, *Brucella abortus* (souche B19), endotoxine de *Salmonella Typhimurium*, Virus A/Equi 1/Prague 56 de la grippe équine,
- Influence sur la résistance à une tumeur expérimentale : le carcinome d'ERLICH sous-cutané (ce thème constitue le sujet de cette thèse).

Les résultats de ces travaux ont été publiés d'une part, dans un rapport d'étude du Laboratoire de Toxicologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON :

"Etude des effets immunologiques des PCB chez la souris" par G. KECK et G. LORGUE, et, d'autre part, dans la thèse de Jean-François BERNARDET (9) :

"Effets immunologiques de la contamination par les polychlorobiphényles (PCB) : étude de leur action sur la sensibilité de la souris à une infection grippale expérimentale" (6 Mai 1980).

- INTRODUCTION - ---

Lorsqu'en 1964, l'analyste suédois JENSEN a entrepris ses recherches par la toute nouvelle méthode de couplage chromatographique en phase gazeuse - spectrométrie de masse, il cherchait à identifier les nombreux pics non répertoriés, trouvés depuis quelque temps déjà par lui-même et d'autres chercheurs, lors de la recherche de résidus d'insecticides organochlorés dans des prélèvements provenant d'animaux sauvages. La technique récente permit alors d'identifier ces pics inconnus comme étant dûs à des composés organochlorés particuliers, les biphényles polychlorés, appelés plus couramment PCB (polychloro-biphényles en anglais).

Ces composés, dont la production commerciale n'a commencé qu'en 1930, et n'est devenue importante que dans les années 1960-1970 (100 000 tonnes produites annuellement dans le monde), n'avaient jusqu'alors fait parler d'eux que par des problèmes d'intoxications professionnelles, en particulier parmi le personnel affecté à leur fabrication (chloracné).

Leur identification dans le milieu naturel par JENSEN et depuis, leur découverte dans des échantillons biologiques provenant du monde entier et de tous les écosystèmes (73), les ont placés au rang des micropolluants majeurs, étant des composés universellement répandus à des concentrations généralement faibles, mais dont la toxicité est progressive, cumulative et chronique, comme par exemple le DDT.

Les PCB représentent sans conteste l'aspect le plus important de la pollution par des résidus organochlorés à l'heure actuelle :

- au plan de la santé animale : car s'ils entraînent assez rarement des accidents chez les animaux domestiques, c'est surtout leur toxicité à long terme, encore mal évaluée, qui est inquiétante ;

- au plan de l'hygiène publique : une réglementation et un contrôle stricts doivent assurer des teneurs maximales tolérées dans les denrées alimentaires ;

.../...

- au plan de l'écologie générale : ils représentent un contaminant - type des milieux naturels et un modèle d'étude.

Dans ce travail, nous exposerons dans une première partie les données générales concernant les PCB, sous forme d'une revue bibliographique ; cela nous conduira à considérer que les PCB peuvent exercer sur les organismes des animaux un effet immunodépresseur. C'est cet effet immunodépresseur que nous avons tenté de rechercher en étudiant la sensibilité des souris contaminées expérimentalement par le DP 5 à une tumeur liquide : l'ascite d'ERLICH. Cette expérience nous a permis également de faire le point sur les effets cancérogènes propres des PCB.

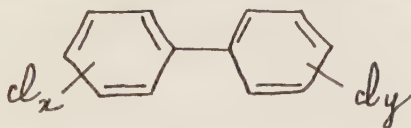
- PREMIERE PARTIE -

I - LES PCB : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES GENERALES, (9).

Dans cette étude très générale, nous définirons tout d'abord les substances envisagées, par leur structure, leur préparation et leurs propriétés. Après avoir donné un aperçu de leurs utilisations industrielles, nous serons conduits à étudier leur devenir dans le milieu naturel, et enfin leur toxicité.

1 - STRUCTURE ET PREPARATION.

La structure générale des PCB est celle du diphenyle $C_6H_5 - C_6H_5$ substitué par un nombre variable d'atomes de chlore (2 à 10), (Voir figure N° 1).

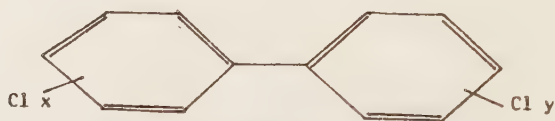


STRUCTURE DES PCB.

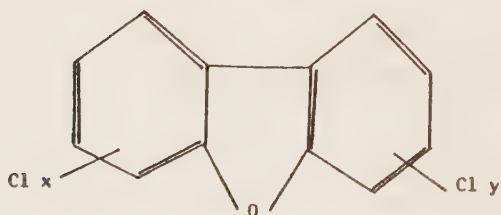
Leur préparation industrielle est effectuée par chloration directe du diphenyle, mis en présence de chlore anhydre. Il est important de noter que ce procédé donne naissance non pas à un composé défini mais à un mélange complexe de produits dont le degré de substitution est variable avec, en outre, différents isomères de position pour chaque nombre d'atomes de chlore. C'est en faisant varier le pourcentage de chlore lors de la réaction que l'on peut orienter la composition du mélange vers une chloration moyenne permettant d'obtenir les propriétés techniques requises.

Ceci explique les dénominations commerciales des produits, qui indiquent toujours la teneur moyenne en chlore du mélange. Par exemple, aux U.S.A. : Arochlor 1248, 1254, 1262 (fabriqués par MONSANTO), où 12 indique le nombre d'atomes de carbone, et le chiffre suivant, le pourcentage de chloration du mélange ; en France : Phénochlor = DP₄, DP₅, DP₆ (fabriqués par PRODELEC), où DP signifie diphenyle, et le chiffre le nombre moyen d'atomes de chlore par molécule.

Figure N° 1 : STRUCTURE DES PCB ET DES COMPOSES VOISINS.



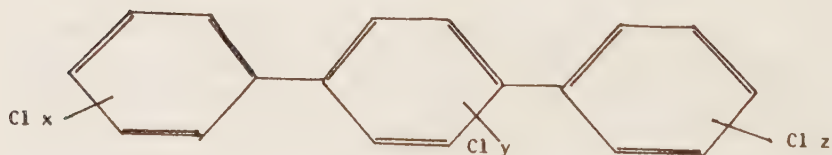
PCB = POLYCHLOROBIPHENYLES



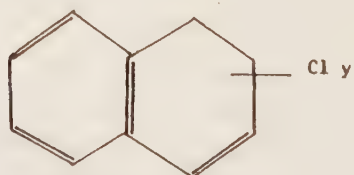
PCDF = POLYCHLORODIBENZOFURANNES



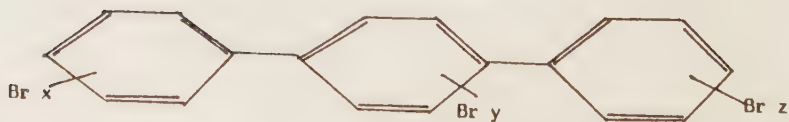
PBB = POLYBROMOBIPHENYLES



PCT = POLYCHLOROTERPHENYLES



NAPHTALENES POLYCHLORES



PBT = POLYBROMOTERPHENYLS

Il existe des composés voisins des PCB, comportant trois noyaux benzéniques ou plus, substitués par un nombre variable d'atomes de chlore, et dont les propriétés et les utilisations sont très proches de celles des PCB : les polychloroterphényles (PCT) et les naphthalènes polychlorés ; eux aussi ont été retrouvés dans les milieux naturels ou leur toxicité s'ajoute à celle des PCB et du DDT (15-24-104). Il existe aussi des composés aromatiques non plus chlorés mais bromés assez répandus et toxiques : les polybromobiphényles et les polybromoterphényles (PBB et PBT) (15-21-56).

Enfin, lors de la fabrication industrielle des PCB, il y a souvent formation d'impuretés qui se retrouvent dans les produits commerciaux, et donc dans le milieu : ce sont les polychlorodibenzofurannes, substances très toxiques, dont certains auteurs pensent qu'elles pourraient être la cause de la majeure partie des effets toxiques des PCB (66-67- 96 - 101), (Figure N° 1).

2 - PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES.

Parmi les propriétés physicochimiques qui expliquent le rôle écologique et toxicologique des PCB, il faut noter que les PCB sont très solubles dans les solvants organiques et les graisses, mais pratiquement pas dans l'eau ; que ce sont des composés extrêmement stables, ce qui explique leur grande rémanence dans l'environnement ; les agents physiques (chaleur, rayonnements), chimiques et biologiques sont peu actifs sur eux. La seule méthode de destruction efficace et autorisée est un chauffage à 1400°C (44).

3 - APPLICATIONS INDUSTRIELLES ET SOURCES DE CONTAMINATION.

Depuis les débuts de la production industrielle des PCB, en 1930, on estime que plus d'un million de tonnes a été commercialisé. Les Etats-Unis restent le plus gros producteur mondial, mais la fabrication des PCB a pris de l'importance en U.R.S.S. et en Europe. En raison de leur impact sur l'environnement, leur fabrication a été considérablement diminuée et réservée aux utilisations en circuit fermé, depuis une dizaine d'années.

On peut distinguer, d'après les risques d'impact sur l'environnement, trois types d'applications industrielles :

.../...

3.1 - Les systèmes clos contrôlables :

Cas des PCB utilisés comme diélectriques dans les transformateurs et les gros condensateurs, et qui ne posent de problèmes qu'en cas de fuite accidentelle et lors de la mise au rebut de l'appareil ; dans ce dernier cas, la quantité de PCB qu'ils contiennent suffit pour justifier leur récupération. Ceci représente l'utilisation majeure des PCB.

3.2 - Les systèmes clos non contrôlables :

Cas des PCB utilisés dans des systèmes hydrauliques et d'échange thermique qui, bien que fonctionnant en circuit fermé, permettent des fuites. Mais surtout, il s'agit des PCB utilisés en faibles quantités dans les condensateurs (tubes fluorescents, moteurs, émetteurs, radio...), des redresseurs, des régulateurs de tension, etc... qu'il est impossible de récupérer quand le matériel est hors d'usage, et qui sont donc dispersés.

3.3 - Les systèmes ouverts (= à produit perdu) :

Les PCB sont alors en contact direct avec l'environnement et irrécupérables. C'est le cas des PCB utilisés comme agents plastifiants et anti-corrosifs dans les peintures et vernis, comme agents lubrifiants dans des huiles de graissage, comme agents améliorateurs des plastiques et polymères, mais aussi dans les caoutchoucs, les adhésifs, les encres d'imprimerie, les papiers, les savons, les insecticides et bien d'autres produits.

Ainsi, plus de la moitié de la production mondiale a été rejetée dans des trous de comblement d'où les PCB, très stables, ont été libérés très progressivement. Quant au reste, il a largement pénétré dans l'environnement par la voie de rejets de liquides industriels dans les rivières et les mers, par des fuites des systèmes incontrôlables, par volatilisation dans l'atmosphère lors de l'incinération dans les dépotoirs, et par diffusion lente à partir des peintures des matières plastiques, des pesticides (68 - 73), (voir figure N°2).

A côté de ces différents modes de contamination insidieuse des milieux naturels, il existe des contaminations directes de l'homme et des animaux domestiques d'origine accidentelle, le plus souvent par pollution de denrées alimentaires : citons notamment cet accident survenu au JAPON en 1968, dû à la consommation d'huile de riz contaminée par du Kanechlor 400 à la suite d'une

.../...

fuite dans un échangeur thermique ("Yusho oil disease") ; parmi les animaux domestiques, des intoxications ont été signalées chez des volailles qui avaient consommé de la farine de poissons contaminée par de l'Arochlor 1254, ou qui picorant des grillages plastifiés, chez des bovins qui avaient léché des peintures anticorrosives ou des tapis de caoutchouc utilisés sur le sol des étables (100).

Ayant envisagé les modes de pénétration des PCB dans les milieux naturels, il nous faut maintenant étudier leur devenir.

4 - DEVENIR DANS LES MILIEUX NATURELS.

Le devenir des PCB dans la nature, proche de celui des autres organochlorés, est néanmoins défini par leurs particularités physicochimiques, et surtout par leur extrême stabilité qui explique qu'ils soient très peu dégradés, tant par les facteurs physiques (radiations), que par les facteurs biologiques (métabolisme des bactéries ou des animaux supérieurs). On les retrouve donc à peu près intacts à tous les niveaux. La répartition des PCB dans les milieux et dans les êtres vivants dépend de deux types de mécanismes :

4.1 - Transport et distribution dans le milieu abiotique (voir figure N° 2) :

- Dans l'atmosphère : par volatilisation lors de la combustion de substances contenant des PCB ou bien par diffusion à partir de peintures ou des pesticides, les PCB se retrouvent en suspension dans l'air et peuvent, soit retomber sur le sol, soit être adsorbés sur des particules et donc être transportés par les vents ; le retour au sol se fait alors par les pluies ou les brouillards.

- Dans l'hydrosphère : du fait de leur hydrosolubilité à peu près nulle, que ce soit dans les eaux douces ou marines, superficielles ou phréatiques, les PCB se trouvent sous forme adsorbée à des particules en suspension, des végétaux, des sédiments vaseux ou niveau desquels il existe un véritable stockage.

Ces deux modes de transport assurent, grâce aux vents et aux courants, la répartition mondiale des PCB que l'on connaît actuellement.

- Dans les sols : les PCB des sols proviennent du dépôt de particules aériennes, surtout près des villes, de la pénétration des eaux polluées, mais aussi de l'utilisation de PCB dans certains pesticides (68).

cans), chez les mammifères aquatiques (phoques, otaries (23)), chez l'homme qui accumule en moyenne 1 ppm de PCB dans ses graisses (17), et les animaux domestiques (voir figure N° 3 : exemple d'une chaîne alimentaire de l'Océan Atlantique).

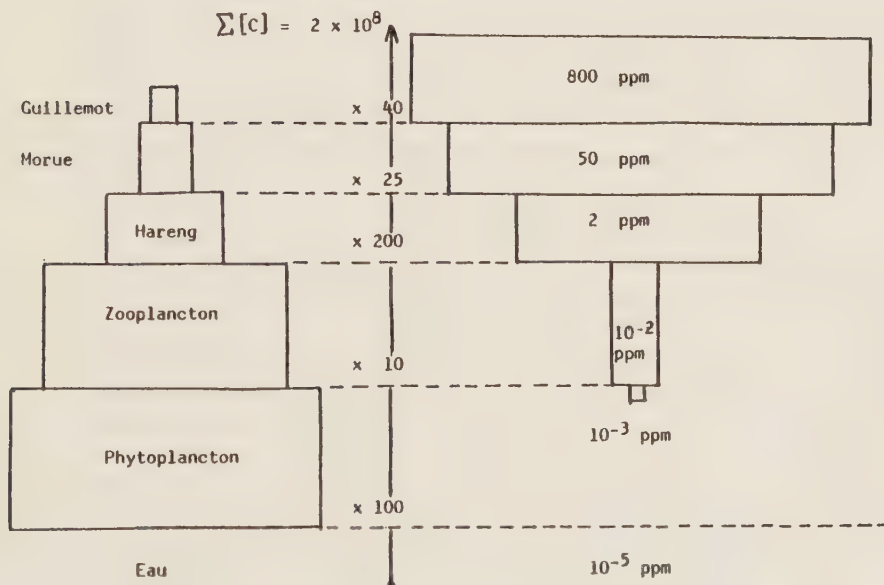


Figure N° 3 : DIAGRAMME DE LA CONCENTRATION DES PCB PAR UNE CHAÎNE ALIMENTAIRE DANS L'OCEAN ATLANTIQUE. L'IMPORTANCE DES COMPARTIMENTS DES PYRAMIDES EST EN RELATION, A GAUCHE : AVEC LES BIOMASSES, ET A DROITE : AVEC LES CONCENTRATIONS EN PCB (D'après les données de différents auteurs).

Ayant ainsi constaté la réalité et la gravité de la présence des PCB dans les tissus des animaux, nous envisagerons maintenant leurs répercussions biologiques.

.../...

5 - TOXICOLOGIE DES PCB.

Nous étudierons tout d'abord la cinétique des PCB puisqu'elle conditionne une bonne part de leurs effets, puis leur toxicité elle-même.

5.1 - Cinétique des PCB dans l'organisme :

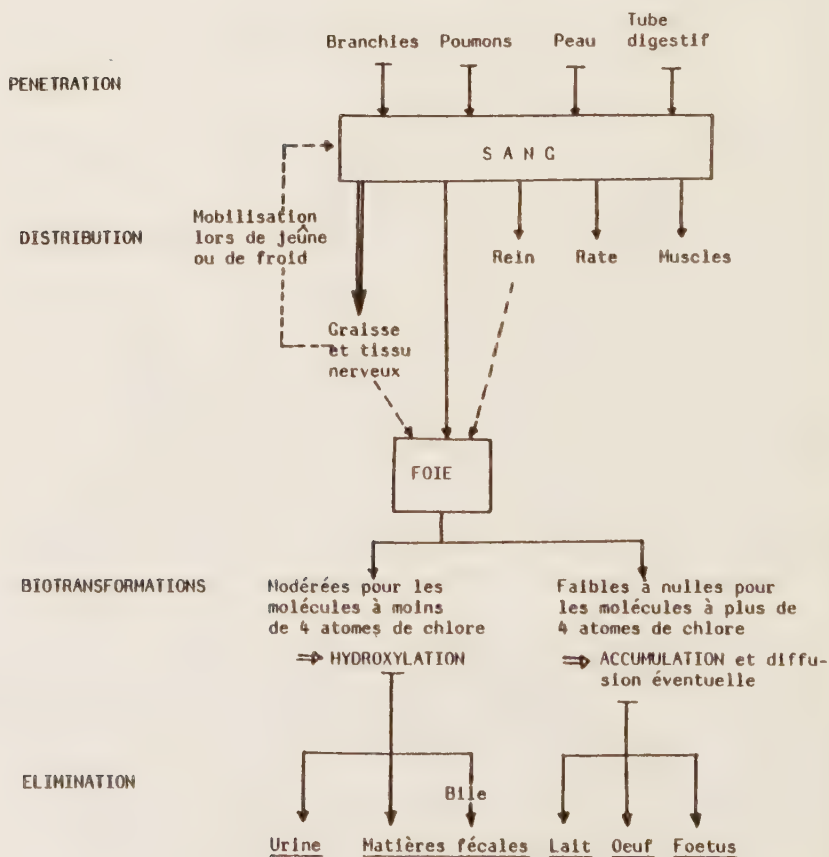


Figure N° 4 : DEVENIR DES PCB DANS L'ORGANISME.

- Absorption : chez les poissons et les invertébrés aquatiques, l'absorption des PCB peut se faire à travers la peau, les branchies, directement à partir du milieu, mais aussi par absorption alimentaire. Chez l'homme et les animaux terrestres, la voie d'absorption majeure est la voie digestive, par contamination alimentaire. La pénétration percutanée existe aussi, comme l'on montré VOS et BEEMS en appliquant des PCB sur la peau des lapins et en déclenchant chez eux des symptômes d'intoxication générale (97). Chez les personnes travaillant à la fabrication des PCB, il semble que cette voie cutanée, combinée à une inhalation, puisse expliquer leur contamination (68). Dans le cas où les PCB sont ingérés, ils sont absorbés très rapidement au niveau des muqueuses digestives (1-2).

- Distribution dans l'organisme : d'une façon générale, les études réalisées sur ce sujet montrent que les PCB s'accumulent préférentiellement dans les tissus riches en lipides, ce qui s'explique par leur caractère hautement liposoluble ; on les retrouvera donc surtout dans les graisses et les tissus nerveux et à un moindre degré, dans le foie, les reins, la rate, le coeur, et les muscles squelettiques (2 - 22 - 27 - 107). Mais cette distribution n'est pas statique dans le temps ; ALLEN, NORBACK et HSU (5) ont noté par exemple, qu'après avoir donné à des macaques une seule dose de 3 g/Kg d'Arochlor 1248 par voie orale, la concentration de ce mélange de PCB est maximale au début dans les fèces (passage par la bile) et le foie, et plus faible dans le cerveau et les reins. Mais après deux semaines, cette concentration augmente dans le foie et diminue dans le cerveau et les reins : il y a eu mobilisation des PCB de ces organes vers le foie.

De même, les PCB accumulés dans les graisses peuvent être libérés lors de la mobilisation des lipides en période de jeûne ou de froid. Ce phénomène, qui existe chez les oiseaux (99) et les mammifères (8) entraîne une brutale libération de PCB dans l'organisme, et des concentrations toxiques.

- Biotransformations : dans l'ensemble des espèces, la dégradation des PCB est très limitée ; la seule réaction observée au niveau des microsomes hépatiques consiste en une hydroxylation partielle des molécules de PCB, avec fixation d'un ou deux radicaux OH (12 - 27 - 75 - 107). Il est important de

noter que cette réaction se fait essentiellement sur les molécules peu chlorées (4 atomes de chlore au plus), dont la polarité, et donc l'hydrosolubilité sont améliorées par l'hydroxylation, ce qui explique leur élimination par la bile et l'urine. Par contre, les molécules comportant plus de 4 atomes de chlore, s'accumulent beaucoup plus dans l'organisme, et constituent la majeure partie des résidus à l'ong terme.

L'hydroxylation des composés halogénés dans les microsomes hépatiques peut se faire par voie directe, mais aussi par passage par des composés activés transitoires, les arènes-oxydes (voir figure N° 5). Ces composés sont très dangereux puisqu'ils peuvent se lier à des macromolécules cellulaires fondamentales - tels les acides nucléiques et les protéines - et en modifier l'activité (43-75-76). Il faut signaler dès maintenant que toutes les espèces animales ne semblent pas former ces arènes-oxydes en proportions identiques ce qui pourrait expliquer les différences interspécifiques dans la sensibilité aux PCB.

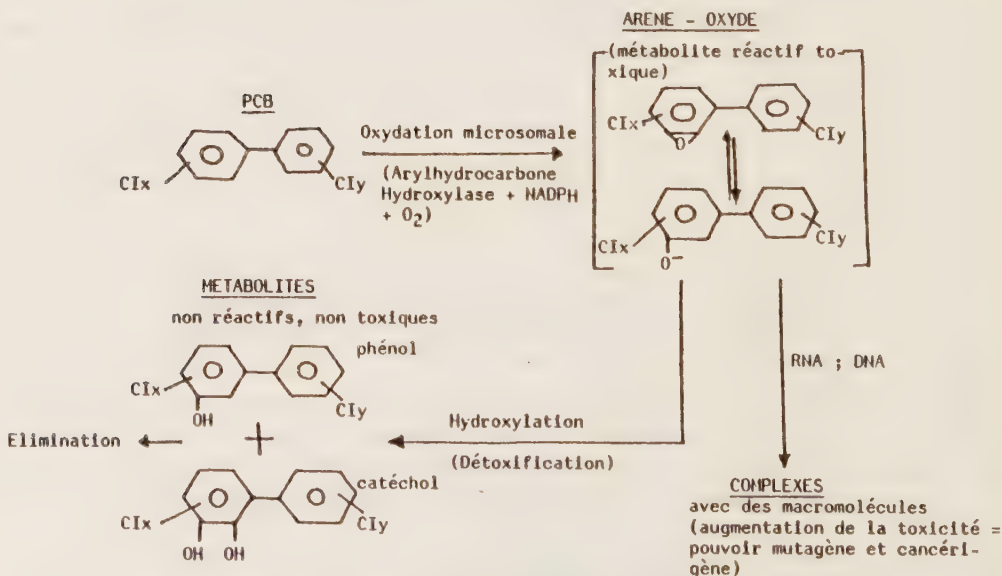


Figure N° 5 ; METABOLISME DES PCB : PASSAGE PAR UN STADE INTERMEDIAIRE ARENE-OXYDE.

- Elimination :

. Urine et fécès : après administration expérimentale de PCB par voie orale, la plupart des auteurs constatent que leur élimination sous formes hydroxylées se fait surtout dans les fécès, directement ou via la bile, et beaucoup moins dans l'urine (5-27-88). Par exemple, PETERSON et Coll (69) administrent à des rats, par une sonde gastrique, 50 ppm de deux PCB tritiés purs, un hexachlorobiphényle et un tétrachlorabiphényle. Ils constatent que l'élimination fécale du PCB correspond à 40 % de la dose ingérée, contre 1,7 % par voie urinaire. Ils constatent également que le niveau d'excrétion biliaire dépend de la structure du PCB : 0,5 % de la dose de l'hexachlorobiphényle passe dans la bile en 24 heures, contre 42 % de la dose du PCB.

Malgré tout, l'élimination des PCB reste faible (10 à 30 %) lors d'absorption de fortes doses dans les conditions expérimentales. Elle est encore plus réduite lors d'une contamination répétée par de faibles concentrations, comme c'est le cas dans les conditions naturelles.

. Lait : SASCHENBRECKER et Coll (78) ont administré à des vaches 10 et 100 ppm d'Arochlor 1254 par voie orale. Ils ont constaté que le PCB apparaît dans le lait 24 heures après, à raison de 6,27 et 74,5 mg/l respectivement ; des traces de PCB persistaient dans le lait 50 jours plus tard. Avec un apport quotidien de 200 mg d'Arochlor 1254 chez des vaches, une concentration stable de 61 ppm dans les matières grasses du lait et de 42 ppm dans la graisse corporelle a été observée en 10 jours par FRIES et Coll (29). La présence de PCB dans le lait lors d'expérimentations a été retrouvée chez le rat (21-88), le macaque (4), la truie (32). Chez la femme, dans les conditions naturelles, le lait contient des PCB, que ce soit aux U.S.A. (100 ppb) (79), au JAPON (106), en POLOGNE : 0,33 ppm en moyenne. (INSZKIEWICZ et Coll, cités par le rapport de l'O.M.S.). TAGAKI et Coll (88) donnent des PCB marqués par voie orale à des ratte gestantes puis pendant l'allaitement: Ils notent que, si le transfert des PCB aux foetus par voie transplacentaire représente moins de 0,28 % de la dose absorbée par la ratte, ce transfert passe à 2 % chez les nouveaux-nés par le lait. Les auteurs constatent aussi que les ratte allaitantes ont des concentrations en PCB dans leurs organes, nettement plus faibles que les ratte qui n'allaitent pas : cela montre bien que le lait est un émonctoire important pour les PCB.

- Passage transplacentaire : le passage des PCB de la mère gestante aux foetus a été démontré dans différentes espèces. Rappelons les études de

TAGAKI et Coll et de MASUDA et Coll (60) où les auteurs constatent un faible passage transplacentaire chez la ratte et la souris : moins de 0,28 % de la dose reçue par la ratte et 0,1 % pour la souris.

ALLEN et BARSOTTI ont mis en évidence des hypoplasies profondes des organes lymphoïdes de macaques nouveaux-nés, avec des doses aussi faibles que 2,5 ppm administrées à la mère pendant la gestation (4). Chez le chien beagle et le porc, COUVILLON, EARL et VAN LOO retrouvent aussi ce transfert placentaire, avec l'Arochlor 1254 qui se concentre dans le foie des foetus (22). Cette concentration des PCB chez le foetus a été retrouvée chez la vache (70), chez le lapin avec l'Arochlor 1254, mais non avec le 1221 comme le signale le rapport de l'O.M.S. (68).

Le passage transplacentaire du Kanechlor 400 a été démontré dans le cas du "Yusho oil disease".

Ce phénomène existe donc dans la plupart des espèces, plus ou moins développé suivant les substances envisagées, puisque les composés plus chlorés (Arochlor 1254) semblent passer en plus grande quantité que les composés moins chlorés (Arochlor 1221), grâce à leur meilleure liposolubilité.

- Passage dans les oeufs : le passage des PCB dans les oeufs de différentes espèces d'oiseaux domestiques et sauvages a été le plus souvent démontré indirectement par les lésions qu'ils provoquent sur les embryons ou les poussins. Plus directement, l'analyse des oeufs de volailles ayant reçu des PCB dans leur alimentation a été effectuée par plusieurs auteurs. SALLY et Coll font consommer à des poulettes de l'Arochlor 1254 aux doses de 0, 1, 10 et 100 ppm dans les aliments pendant 24 jours. Ils déterminent alors la concentration dans la graisse, le foie, les muscles et les oeufs. Celles-ci sont respectivement de 40, 4, 1 et 1 ppm (87). Par ailleurs, JENSEN et SUNDSTROM ont trouvé que 33 % d'une dose orale d'hexachlorobiphényle administrée à des cailles était excrétée dans les oeufs en 10 jours (68). Une autre mise en évidence très directe du passage des PCB dans les oeufs a été obtenue par NAGAO et HOSOYA (64), par distribution à des cailles de PCB marqués au carbone 14 et autoradiographie du corps entier après 24 heures : ils ont constaté que l'accumulation de la radioactivité se faisait dans les follicules et le jaune des oeufs, et non pas dans le blanc. L'étude récente de HARRIS et Coll (34) est intéressante car,

.../...

utilisant différents Arochlors par voie orale chez les poulettes pendant 8 semaines, elle montre que le passage dans les oeufs dépend du temps de rétention des PCB dans l'organisme, donc de leur degré de chloration qui détermine la liposolubilité. Pour les PCB dont le temps de rétention est inférieur à celui du DDE, l'accumulation dans les oeufs est inférieure à la moitié de celle de l'aliment. Par contre, si le temps de rétention du PCB est supérieur à celui du DDE, on le retrouve dans l'oeuf en concentration égale à celle de l'aliment.

En ce qui concerne les oiseaux sauvages, plusieurs enquêtes ont démontré la présence d'organochlorés, notamment de PCB dans les oeufs. C'est surtout le cas des oiseaux piscivores ou des rapaces (68-73). Par exemple, BLUS L.J. et Coll (a) ont travaillé de 1969 à 1973 sur les résidus des oeufs de pélicans bruns. Ils y ont retrouvé 10 organochlorés (dont des PCB) et 10 métaux lourds : la concentration globale en organochlorés était 10 fois supérieure dans les oeufs à ce qu'elle était chez les poissons ingérés par les parents ; c'est un exemple de concentration entre deux maillons de la chaîne alimentaire.

Comme le lait des femelles des mammifères, on constate donc que les oeufs sont une voie d'excrétion majeure chez les femelles des oiseaux.

- Influence de la structure sur la rétention : on sait que la durée de rétention des PCB est fonction de la teneur en lipides des tissus, mais surtout de leur aptitude à être métabolisés. En ce qui concerne cette dernière, il est admis que la teneur en chlore de la molécule est le facteur déterminant : la nature et la quantité des métabolites diminuent quand le degré de chloration augmente ; cela explique que les tissus restent plus riches en composés les plus chlorés (voir figure N° 6).

Par exemple, BAILEY et BUNYAN cités par le rapport de l'O.M.S. (68) ont trouvé que les temps de demi-élimination de divers PCB dans la graisse de caille ou de pigeon après l'arrêt d'un traitement à l'Arochlor 1242 ou à l'Arochlor 1254 était de 50 jours dans le premier cas, et de 125 jours dans le second. Dans l'étude de PETERSON et Coll (69) ces auteurs comparaient la vitesse d'excrétion, de deux PCB purs et tritiés : un hexachlorobiphényle et un tétrachlorobiphényle ; la plus nette différence entre ces deux composés se situait au niveau de l'excrétion biliaire : chez des rats mâles, 0,5 % de la dose d'hexachlorobiphényle était excrétée en 24 heures alors que cette quantité était de 42,2 % pour le tétrachlorobiphényle.

Les auteurs mettent ce phénomène sur le compte, non d'une différence d'absorption digestive de ces deux produits, mais d'un métabolisme plus lent du composé hexachloré ; les deux atomes de chlore supplémentaires en position 4 et 4' entraînent l'absence de carbones non substitués, supports d'un métabolisme rapide.

Ayant donné à des souris, pendant 20 jours, 10 ppm de 6 isomères d'un même PCB, le tétrachlorobiphényle, MIZUTANI et Coll constatent que le degré d'accumulation varie considérablement d'un composé à l'autre, bien qu'ils aient tous le même degré de chloration ; par exemple, il n'y a aucun résidu correspondant au 2, 6, 2', 6' TCB car il est sans doute très vite métabolisé. Les mêmes auteurs reprennent l'expérience avec seulement 3 TCB différents, mais en administrant en plus aux souris 200 ppm de phénobarbital, dont on connaît le pouvoir d'induction des systèmes enzymatiques microsomaux. Or, la présence de phénobarbital n'augmente pas la vitesse de dégradation des TCB. Les auteurs concluent que la diminution des PCB dans l'organisme et leur demi vie biologique dépendent plus de leur vitesse de libération à partir de la graisse que de leur vitesse de métabolisme hépatique. Cela explique en partie que les grandes différences entre les demi-vies biologiques des différents isomères d'un même PCB ne soient pas nécessairement en rapport avec le type de substitution.

Cette étude du devenir des PCB dans l'organisme nous permet d'envisager maintenant les retentissements de leur présence sur la santé.

5.2 - Toxicité des PCB :

Les PCB ne peuvent être que rarement responsables d'intoxications cliniques, mais ils posent de graves problèmes au niveau des effets biologiques à long terme, plus difficiles à analyser. Nous allons étudier successivement ces deux aspects.

- Toxicité clinique (cf. tableau N° 1) :

. Chez les primates : nous avons déjà cité, en ce qui concerne l'homme, le cas de Japonais contaminés par le Kanechlor 400, et dont les symptômes constituent le "Yusho oil disease" : ils souffrent de signes cutanés (dermite, éruptions, pigmentation brune de la peau et des ongles, chute de cheveux), hépatiques (ictère, porphyrinurie), digestifs (nausées, vomissements) et nerveux (fatig-

ESPECE	VOIE D'ADMINISTRATION	NATURE DU PCB	DL 50 EN GRAMMES DE PCB PAR KG DE POIDS CORPOREL	REFERENCE
RAT	Orale	Arochlor 1221 Arochlor 1262	4 11,3	} COMPAGNIE MONSANTO, 1972
RAT	Intra-veineuse	Arochlor 1254	0,36	LINDER et al, 1974
RAT	Orale Intrapéritoné- ale	Arochlor 1254 Tétrachlorobi- phényle Hydroxy-5 tétrachlorobi- phényle	4 à 9 2,15 0,43	KIMBROUGH et al, 1972 YAMAMOTO et YOSHIMURA, 1973
CANARD	Orale	Arochlors 1242 et 1254	2	TUCKER et CRABTREE, 1970
DIFFERENTS OISEAUX	Orale	Arochlors 1232 et 1262	0,5 à 5	HEATH et al, 1970
TRUITE ARC-EN-CIEL	Orale	Arochlors 1242 et 1260	1,5	STALLING et MAYER, 1972

Tableau N° 1 : DOSES LETALES 50 % DANS DIFFERENTES ESPECES ANIMALES, SELON LA VOIE
D'ADMINISTRATION ET LA NATURE DU PCB.

gue, céphalées) (31). Une bronchite chronique persistante a aussi été signalée chez l'un de ces malades (82-83). Certains de ces symptômes ont été retrouvés chez des enfants nés de mères atteintes du "Yusho".

Pour les singes, les symptômes observés sont assez similaires à ceux du "Yusho" : avec 100 ou 300 ppm d'Arochlor 1248 dans l'alimentation de macaques adultes, pendant plusieurs mois, ALLEN (2) a observé une mortalité très élevée, précédée d'une chute pondérale, d'alopecie, d'oedèmes de la face avec hyperkératose, d'une forte hypertrophie du foie, et d'une gastrite hyperplasique et ulcéreuse très grave. Avec des doses quotidiennes de 2,5 et 25 ppm pendant les mêmes périodes, il obtient seulement une anémie et une gastrite sévère, sauf à la dose de 25 ppm où l'oedème facial et l'alopecie peuvent précéder la mort. Les symptômes peuvent persister plus de deux ans. De plus, les femelles traitées sont fécondables seulement dans la proportion de 12,5 % par rapport à 90 % pour les femelles témoins.

. Chez les rongeurs : chez le rat, la toxicité aiguë des PCB est faible ; la DL 50 varie de 4g/Kg avec l'Arochlor 1221, à 11,3 g/Kg pour l'Arochlor 1262 (cité dans le rapport de l'O.M.S. (68)). La mort survient chez le rat avec 1000 ppm d'Arochlor 1254 et 1260 pendant 8 mois (4), alors que la même dose n'entraîne chez la souris qu'une hépatomégalie (91). Chez les rongeurs fortement intoxiqués, on retrouve des symptômes proches de ceux des primates : perte de poids, alopecie, ulcération des muqueuses digestives (50), troubles respiratoires, mais aussi ataxie, larmoiement, diarrhée, goîtres (7-82-83).

. Chez les bovins : Les accidents dus aux PCB sont assez rares. Un cas d'intoxication dermique a été décrit (100) : dans un élevage, les vaches présentaient un amaigrissement, une diminution de la sécrétion lactée et des lésions cutanées d'hyperkératose ; cette pathologie a pu être mise en rapport avec la présence d'un tapis décrottoir en caoutchouc, riche en PCB, sur le sol des étables. Mais seule, une diminution de la sécrétion lactée a été notée lors des contaminations de bovins aux U.S.A. en 1970 et 1971, dues à un ensilage contaminé par la peinture anticorrosive des silos.

. Chez le porc : on ne connaît que des cas d'intoxication expérimentale ; en donnant 250 ppm de différents Arochlores à des porcelets de 4 semaines jusqu'à 12 semaines, PLATONOW et Coll n'ont noté qu'une nette augmentation du gain de

poids : 30 % avec l'Arochlor 1232, 10 % avec l'Arochlor 1242, et 50 % avec l'Arochlor 1254. Ils attribuent donc à ces substances un rôle de facteur de croissance. Au cours de nos propres expériences, nous avons également constaté que les souris, recevant 10 ou 50 ppm de DP 5 dans leur ration, avaient un gain de poids significativement augmenté par rapport aux souris témoins (voir troisième partie).

Mais d'autres auteurs n'ont pas retrouvé ces résultats. HANSEN, WILSON et BYERLY (33), en donnant 20 ppm de PCB à des porcs et des moutons depuis le sevrage jusqu'à la taille commerciale, ont constaté au contraire une diminution de l'efficacité des aliments et du gain de poids, ainsi qu'une augmentation de la fréquence des pneumonies et des ulcères gastriques chez les porcs.

Une importante toxicité de l'Arochlor 1254 a été retrouvée par MINIATS et Coll (62) sur des porcelets germ free de 14 jours, recevant diverses concentrations de ce PCB : en dessous de 25 ppm, le produit déclenche une diarrhée, des érythèmes du nez et de l'anus, et une distension abdominale. Au dessus de cette dose, les symptômes vont jusqu'à l'incoordination motrice, le coma et la mort en 20 jours. Les auteurs en déduisent que la plus grande sensibilité de ces animaux par rapport aux porcs normaux et plus âgés, vient à la fois de l'absence de flore intestinale, et de la faible quantité d'enzymes hépatiques chez ces sujets très jeunes.

Enfin, HANSEN et Coll (32) administrant 20 ppm d'Arochlor 1242 à des truies pendant leur gestation et l'allaitement, constatent, outre la baisse de prolificité, une plus grande fréquence d'ulcères gastriques et d'infections chroniques. Les truies contaminées sont donc moins résistantes aux agressions que les sujets témoins : ceci est à mettre en rapport avec le pouvoir immunodépresseur des PCB dont nous reparlerons.

• Chez les oiseaux : la toxicité aigue orale des Arochlores 1242 et 1254 pour le canard Colvert est faible, la DL 50 étant dans les deux cas supérieure à 2 g/Kg (68).

En ce qui concerne la toxicité chronique des PCB chez les oiseaux, des études ont été entreprises par VOS et KOEMAN (95) sur la toxicité chez des poulets de trois composés du commerce, tous trois à 60 % de chloration : le Phénochlor DP 6, le Clophen A 60 et l'Arochlor 1260. La dose quotidienne de 400 ppm est

administrée par voie orale pendant 60 jours. Les deux premiers de ces composés ont provoqué une mortalité de 100 % avec, respectivement, des temps de survie de 24,3 et 20,5 jours. Mais pendant la même période, l'Arochlor n'a tué que 15 % des animaux. La mortalité s'accompagnait de lésions caractéristiques : hydropéricarde, oedèmes cutanés, ascite, nécrose hépatique. Des lésions comparables, quoique moins prononcées, avaient déjà été mises en évidence dans certains élevages. Dans l'attente de son identification, le responsable avait été baptisé "chick oedema factor". Une étude ultérieure des mêmes auteurs (96) a montré que les deux mélanges les plus toxiques étaient caractérisés par la présence d'impuretés très nocives : des tétra et pentachlorodibenzofuranes (PCDF) auxquels ces auteurs attribuent la majorité du pouvoir toxique des préparations commerciales de PCB et qu'ils identifient au "chick oedema factor". Ces substances n'ont pas été mises en évidence dans l'Arochlor, qui est aussi le moins toxique.

La variation de sensibilité interspécifique est également très nette chez les oiseaux : HOLLEMAN et Coll (37) provoquent une forte chute du gain de poids, des oedèmes et de la mortalité chez des poulets recevant 75 et 100 ppm d'Arochlor 1242 pendant 4 semaines, alors que des dindonneaux ne montrent aucun symptôme dans les mêmes conditions. Cette variation de sensibilité est corroborée par les résultats de HEATH et Coll (voir tableau N° 1), qui trouvent des DL 50 variant de 0,5 à 5 g/Kg pour différentes espèces d'oiseaux ; le Colin de Virginie est de loin le plus sensible, alors que la caille japonaise est assez résistante ; ces deux espèces sont pourtant très voisines. Les Anatidés (canards) sont nettement plus résistants que les Gallinacés (poules, faisans, cailles).

- Effets à long terme des PCB :

Les intoxications cliniques dues aux PCB que nous venons d'envisager sont, soit accidentelles et donc rares, soit expérimentales. Il n'en est pas de même des formes inapparentes ou frustes d'intoxications, induites par les PCB répandus à faibles concentrations dans tous les milieux.

Nous allons énumérer les effets à long terme des PCB selon quatre rubriques : action des PCB sur les fonctions hépatiques, sur les fonctions de reproduction, effets immunodépresseurs et effets cancérogènes (ces deux derniers points seront plus longuement évoqués dans la troisième partie).

a - Action des PCB sur les fonctions hépatiques :

L'action majeure des PCB administrés de façon prolongée à des mammifères ou des oiseaux est l'induction enzymatique : ils stimulent fortement la synthèse des enzymes, en particulier celles de la fraction microsomale du foie. Les PCB, notamment l'Arochlor 1254, sont considérés être les plus puissants inducteurs enzymatiques connus à ce jour, à tel point que de nombreux laboratoires les utilisent dans leurs expérimentations en tant qu'inducteurs enzymatiques de référence. Nous allons envisager successivement les principaux caractères de l'induction enzymatique.

. Elle s'exerce vis-à-vis de nombreux systèmes enzymatiques : des méthodes biochimiques et histochimiques ont permis de la mettre en évidence à différents niveaux, mais il faut souligner l'importance majeure de l'induction des enzymes d'hydroxylation microsomale hépatiques : hydroxylase à Cytochrome P 450 et NADPH - Cytochrome C réductases. Mais tous les systèmes enzymatiques ne sont pas induits par les PCB. ALLEN et COLL (3-5) ont montré qu'il n'y a aucune augmentation de l'activité de la glucose 6 phosphate déshydrogénase en présence de PCB. De même HOLUB et COLL (38) ne retrouvent pas d'action des PCB sur les enzymes de la biosynthèse des phospholipides et des triglycérides au niveau des microsomes hépatiques : cela prouve que l'accumulation des lipides dans les hépatocytes des animaux contaminés par les PCB ne se fait pas par induction de ces enzymes mais plutôt par une altération du catabolisme ou du transport des lipides du foie.

. Elle est fonction du degré de chloration du PCB : cela a été clairement montré chez le poulet pour la N-déméthylase et chez le rat pour la N-déméthylase et la O-déméthylase (16-18). Cependant, dans le cas des monooxygénases microsomiales, le degré de chloration du PCB n'influe en rien sur l'intensité de l'induction de ces enzymes (80).

. Elle s'instaure rapidement : le temps de latence de l'induction est faible. BURCHNER et COLL (11) ont étudié l'influence des PCB sur la déméthylation de l'aminopyrine. Ils ont observé l'induction de l'enzyme en cause un jour seulement après le début de la contamination. Ils en déduisent que l'ingestion de très faibles doses de PCB peut augmenter de façon significative, et sans doute prolongée, le métabolisme des médicaments.

. Elle est probablement précédée d'une courte durée de dépression ; CECIL, HARRIS et BITMAN travaillant sur la caillie japonaise ont montré qu'une contamination par les PCB double ou triple le temps de sommeil de ces animaux au pentobarbital, pendant les deux heures qui la suivent ; 24 heures après, le temps de sommeil des caillies contaminées est le même que celui des témoins, et c'est seulement après 48 heures qu'il diminue. Cela semble prouver que les PCB agissent en deux temps : le premier s'instaure dès l'absorption digestive du produit et son arrivée dans le foie ; il consiste en une dépression de certains systèmes enzymatiques de l'hépatocyte, d'où le ralentissement du métabolisme du pento barbitol ; le second intervient après quelques heures, et consiste au contraire, en l'induction proprement dite qui entraîne, d'abord le retour à la normale de la synthèse enzymatique, puis son augmentation, donc l'accélération de la dégradation du barbiturique.

. Elle est très lentement réversible : l'induction enzymatique due à un composé exogène est toujours réversible, mais plus ou moins rapidement selon la vitesse de métabolisme et d'élimination de la substance en cause. Dans le cas des PCB, les biotransformations sont réduites, et le produit tend à s'accumuler dans l'organisme, ce qui explique la lenteur de la réversibilité du phénomène. Les travaux de RIVIERE et Coll (74) le montrent bien : ils distribuent 1 ou 5 mg de DP 5 par jour, pendant 40 jours, à des caillies japonaises et ils constatent que l'activité de 5 enzymes est stimulée dans le foie des jeunes issus de leurs oeufs, et que ce phénomène persiste plus d'un mois après que la contamination des mères ait été arrêtée.

. Elle est croisée : l'augmentation de l'activité enzymatique n'est pas limitée à une réaction métabolique, mais elle concerne l'ensemble des substances dont l'enzyme catalyse la synthèse ou la dégradation. Ce phénomène est très important, car il explique une bonne part des effets biologiques des composés doués d'un pouvoir d'induction enzymatique. En effet, ces composés provoquent l'augmentation du catabolisme ou de l'anabolisme d'un grand nombre de substances exogènes et endogènes dans l'organisme, modifiant ainsi leur durée d'action et leur concentration.

Parmi les substances exogènes dont le métabolisme est modifié, il faut citer les médicaments : chez le rat ayant reçu des PCB, le temps de sommeil induit par le pento barbitol est significativement diminué, prouvant que ce barbiturique est métabolisé plus rapidement (11) et on a pu constater une dégradation accélérée de l'éthylmorphine chez ces animaux contaminés (13).

Les vitamines, particulièrement celles que l'on retrouve au niveau du foie, ont des concentrations modifiées chez les animaux traités au PCB : le stockage de la vitamine A dans le foie des rats et des caillies contaminées est diminuée de 50 %, et la forme active de la vitamine B₆ hépatique est également diminuée (14-30). Il n'y a pas au contraire de modification de la concentration en vitamine B₂. Il est probable que l'induction de certains systèmes enzymatiques est à la base de ces modifications.

Les PCB modifient aussi le métabolisme de substances endogènes, en particulier les hormones : ainsi, la dégradation de l'oestradiol est très nettement augmentée chez le pigeon après injection intramusculaire de 20 ppm d'Arochlor 1262 (68). L'activité de ce PCB sur le métabolisme de l'oestradiol est cinq fois supérieure à celle du DDT. DERR (73) a mis en évidence un fort accroissement du catabolisme de la progestérone chez la ratte après injection intrapéritonéale d'Arochlor 1254. SIVARAJAH et Coll (84-85) ont montré au cours de deux études effectuées chez des poissons que les PCB entraînent une forte baisse de la concentration des stéroïdes sériques (androgènes, oestrogènes et corticostéroïdes). MULLER et Coll (63) ont constaté en traitant quatre singes femelles Rhésus au cours du cycle sexuel avec du Clophen A30, que l'ovulation avait été bloquée chez trois de ces femelles et que les taux d'oestrogènes étaient normalement bas au cours de ces cycles anovulatoires alors que les taux de FSH et LH ne semblaient pas abaissés. Ce taux bas d'oestrogènes s'explique d'une part, par une interaction des PCB avec la stéroïdogénèse ovarienne et d'autre part, par une altération du métabolisme des stéroïdes au niveau du foie. En ce qui concerne les hormones thyroïdiennes, les PCB semblent entraîner chez les oiseaux et les poissons une stimulation de la synthèse de ces hormones (44-73). Mais ce n'est pas le cas chez les mammifères : COLLINS et Coll ont montré que l'administration orale de PCB à des rats entraîne une nette diminution du taux de thyroxine sérique (19).

Les travaux de BASTOMOKY font apparaître une hypertrophie de la thyroïde (= goître) associée à une faible concentration sérique de thyroxine et à un taux élevé de thyrotrophine chez des rats ayant reçu des PCB (7). Les PCB seraient donc des substances goïtrogènes : ils induisent les systèmes enzymatiques de dégradation des hormones thyroïdiennes (d'où leur faible taux sérique), ce qui lève la rétroaction négative normalement exercée par ces hormones sur

.../...

l'antéhypophyse ; celle-ci, libérée, secrète davantage de thyrotropine (d'où la forte concentration sérique) qui va stimuler la thyroïde et induire son hyperplasie.

Le cortex surrénal est, lui aussi, affecté par l'action des PCB. L'étude de SIVARAJAH (84-85) nous avait montré que le taux des corticostéroïdes sériques était diminué après administration de PCB à des poissons. Des travaux effectués sur le faisan et sur la truite (44) ont montré que les PCB peuvent entraîner l'induction des systèmes de dégradation enzymatique des hormones cortico-surrénaliennes, du cortisol notamment. Ces hormones intervenant de façon prépondérante dans les phénomènes de réponse adaptative aux stress et aux conditions de milieu, les PCB diminueraient l'aptitude des animaux à y faire face. Ce problème est aggravé par la dépression immunitaire dont les PCB sont la cause.

Les PCB modifient également le métabolisme des lipides. L'administration de PCB accroît ainsi le nombre de gouttelettes lipidiques dans les hépatocytes (= stéatose) ; nous avons toujours retrouvé ce phénomène de stéatose hépatique au cours de nos expériences (voir troisième partie).

Enfin, une porphyrie a été notée dans de nombreux travaux. Elle consiste, d'une part, en une augmentation de la teneur en coproporphyrine et en protoporphyrine des fécès des animaux contaminés (95-101), et d'autre part, en une fluorescence caractéristique du tissu hépatique aux ultraviolets (95).

Cette augmentation de la biosynthèse des porphyrines est associée à un accroissement de l'enzyme qui catalyse cette réaction : l'acide aminolévulinique - synthétase (99). C'est encore un exemple d'induction enzymatique agissant sur un composé endogène.

b - Action des PCB sur les fonctions de reproduction :

L'action néfaste des PCB sur l'ensemble des fonctions de reproduction des animaux contaminés est sans doute d'origine complexe ; l'induction enzymatique et ses nombreuses répercussions sur les hormones sexuelles y jouent un rôle prépondérant. Mais les PCB troublent aussi la reproduction par une action plus directe à la fois au niveau des récepteurs des oestrogènes sur lesquels ils peuvent se fixer grâce à une configuration spatiale voisine, et au niveau hypothalamohypophysaire.

Les PCB augmentent la dégradation des oestrogènes et gênent leur fixation aux récepteurs : les conséquences de ces phénomènes sont particulièrement évidentes chez les oiseaux puisque, chez eux le métabolisme du calcium est lié à celui des hormones sexuelles. L'intoxication par les organochlorés et plus particulièrement par les PCB, se traduit par une diminution de l'épaisseur de la coquille des oeufs ou même par la disparition de cette coquille, surtout chez les espèces sauvages. Ainsi, de nombreux auteurs mettent en cause les PCB, et les autres organochlorés dans les troubles de la reproduction et dans les baisses de natalité observées chez les rapaces (faucon pèlerin, orfraie ou pygargue, faucon à queue rouge, aigle pêcheur...) et chez certains oiseaux piscivores (cormorans, pélicans, hérons...) dans diverses régions du monde.

Mais les modifications de la coquille ne sont pas les seuls phénomènes observés au niveau de la fonction de reproduction lors de contamination des oiseaux par les PCB ; ainsi, LILLIE et COLL (56), en donnant 5, 10 ou 20 ppm de différents Arochlors à des poulettes, ont remarqué une forte chute du taux d'éclosion aux concentrations 10 et 20 ppm de PCB et des lésions d'œdème sur les embryons. De même, BRIGGS et HARRIS (10), en contaminant des poulets avec 50 ppm d'Arochlor 1242 pendant une semaine, ont obtenu une chute du taux d'éclosion de 73 % par rapport aux témoins.

SIVARAJAH (84-85) a mis en évidence des altérations histologiques graves des ovocytes et des spermatozoïdes chez des poissons fortement contaminés par les PCB. L'action néfaste des PCB sur la fonction de reproduction se retrouve aussi chez les mammifères, notamment les mammifères marins dont l'abondant tissu adipeux contient de fortes concentrations de PCB : des résorptions embryonnaires et des naissances prématurées constatées chez des phoques et des otaries (73-74) seraient dues aux PCB. Il faut rappeler les travaux de MULLER et COLL déjà cités qui ont obtenu après contamination par des PCB des cycles anovulatoires chez des femelles Rhésus (63).

c - Effets cancérogènes des PCB :

Ce point fait l'objet d'un développement particulier dans la troisième partie. Notons cependant :

- . Que les PCB induisent des hépatomes chez les souris.

.../...

. Qu'il pourrait exister une relation entre la fréquence des tumeurs de la peau et du pancréas chez l'homme et l'exposition professionnelle aux PCB.

. Que les PCB, selon les modèles expérimentaux peuvent, soit favoriser le développement de tumeurs, soit au contraire inhiber la croissance de tumeurs.

d - Effets immunodépresseurs des PCB :

Ce sont les effets à long terme les plus récemment étudiés. Ils seront plus longuement abordés dans la discussion de la troisième partie. De nombreux auteurs, travaillant sur des oiseaux ou des mammifères, ont constaté au cours de leurs expériences, que les PCB pouvaient entraîner une diminution de la résistance des animaux à l'égard de diverses infections. Ces phénomènes pouvaient être d'une part la résultante des diverses actions des PCB déjà envisagées (diminution de la résistance aux stress, action sur les hormones et sur le foie), et d'autre part de leurs effets néfastes au niveau des organes immunocompétents.

Avant de conclure cette première partie, il convient de rappeler le rôle joué par les impuretés dans la toxicité de mélanges commerciaux de PCB. Ces impuretés sont des polychlorodibenzofurannes (PCDF). Les études fondamentales sur ce sujet ont été menées par l'équipe de VOS, en Hollande. En 1970, VOS et KOEMAN (96), étudiant les lésions provoquées par les PCB sur les poulets, comparent l'action de trois préparations commerciales : le Phenochlor DP 6, le Clophen A 60 et l'Arochlor 1260 ayant tous le même degré de chloration : 60 %. Ils constatent des lésions plus importantes et plus rapides avec les deux premiers qu'avec l'Arochlor, et mettent en évidence dans les deux premières préparations, par des méthodes de chromatographie gazeuse et sur colonne, des taux élevés de PCDF. Ils ont déduit de cette étude le tableau suivant, montrant par des croix l'intensité du pouvoir pathogène des PCDF et des PCB purs à différents niveaux, (Tableau N° 2).

	LESIONS CUTANÉES (Hyperplasie et hyperkératose)	OÈDEMES	NECROSE ET DÉGÉNÉRESCEN- CE HÉPATIQUES	PORPHYRIE HÉPATIQUE
PCDF	++	++	++	-
PCB purs	+	-	+	++

Tableau N° 2 : COMPARAISON DU POUVOIR PATHOGENE DES PCDF ET DES PCB PURS.

Ceci nous permet de conclure, avec VOS, non à un effet toxique des PCDF seuls, mais bien à une association des toxicités avec un rôle prédominant des PCDF dans certains mélanges commerciaux.

Dans la seconde partie de ce travail, nous rappellerons brièvement les mécanismes de l'immunité antitumorale en insistant sur le rôle joué par les immunodépresseurs dans le développement des tumeurs.

Dans la troisième partie expérimentale, nous étudierons les effets cancérogènes de PCB et les conséquences de la contamination des souris par le DP 5 sur la croissance de l'ascite tumorale d'EHRlich.

- DEUXIEME PARTIE -

II - L'IMMUNITE ANTITUMORALE (55).

Les recherches entreprises au cours de ces dernières années sur les cancers expérimentaux et spontanés ont permis de préciser le rôle important joué par les facteurs immunitaires dans l'évolution du cancer. A la surface des cellules cancéreuses, ont été mis en évidence des néoantigènes de membrane, comparables à des antigènes de transplantation et contre lesquels l'hôte peut diriger une réaction de rejet. Cependant, cette réaction de rejet est loin d'être efficace et l'apparition et le développement d'une tumeur antigénique pour son hôte, dépendront des relations immunologiques entre l'hôte et la tumeur qui s'y développe.

1 - ANTIGENICITE NOUVELLE DES CELLULES CANCEREUSES.

1.1 - Rappel sur les antigènes de greffe ou antigènes d'histocompatibilité :

Ce sont des antigènes glycoprotéiques localisés à la surface de toutes les cellules de l'organisme et responsables de l'immunité des greffes. Ainsi, lorsque les cellules du donneur et du receveur possèdent les mêmes antigènes d'histocompatibilité (= greffes syngéniques), la greffe prend et n'est pas rejetée. Il y a rejet lorsque le receveur reconnaît les antigènes d'histocompatibilité présents à la surface des cellules du greffon comme étrangers ou "non-self" (cas des greffes allogéniques) : il y a alors immunisation. La structure des antigènes d'histocompatibilité est commandée par des gènes : les gènes d'histocompatibilité. On distingue des gènes d'histocompatibilité forte (exemples : le système H₂ chez la souris, le système HLA chez l'homme ou complexe majeur d'histocompatibilité) et des gènes d'histocompatibilité faible.

.../...

1.2 - Etude des cancers expérimentaux :

Chez l'animal, la méthode la plus employée pour la mise en évidence des antigènes tumoraux est l'induction de la résistance à une greffe tumorale. Cette méthode révèle la présence de néoantigènes tumoraux à la surface des cellules cancéreuses, comparables à des antigènes d'histocompatibilité faibles. Ils ont été nommés antigènes de transplantation spécifique des tumeurs ou TSA (Tumeur spécific transplantation antigens).

La présence de ces néoantigènes a été retrouvée à la surface de cellules de tumeurs chimio-induites ou de tumeurs induites par des virus.

Lors de cancers expérimentaux, la réaction de rejet est consécutive à l'apparition sur la surface des cellules tumorales d'antigènes de différenciation différents des antigènes d'histocompatibilité normaux (greffes isogéniques). Cette immunité est transférée par les lymphocytes : c'est une immunité à médiation humorale. Elle s'accompagne de l'apparition dans le sérum des animaux d'anticorps circulants qui n'interviennent pas dans le phénomène de rejet (l'injection de sérum d'animaux porteurs de tumeur n'induit pas le rejet de la greffe), mais constitue un témoin sérologique de la réaction.

1.3 - Etude des cancers spontanés :

La mise en évidence de néoantigènes à la surface des cellules tumorales est beaucoup plus délicate dans le cas des cancers spontanés. L'utilisation des greffes étant impossible (greffes allogéniques incompatibles), ces antigènes sont révélés en recherchant dans le sérum des malades des anticorps dirigés contre leurs propres cellules tumorales ou des cellules allogéniques provenant de tumeurs de même type histologique (recherche par les tests d'immunofluorescence indirecte ou de cytotoxicité *in vitro*). Dans l'espèce humaine, l'existence d'antigènes présents à la surface des cellules tumorales a été retrouvée pour plusieurs types de tumeurs notamment les sarcomes spontanés, la tumeur Burkitt (lymphosarcome), les leucémies, les mélanomes malins, les adénocarcinomes rénaux, les cancers du côlon. Dans ces cas, l'antigène présent à la surface des cellules tumorales est identique à un antigène présent à la surface des cellules embryonnaires et qui disparaît sur les cellules normales : il s'agit

.../...

donc vraisemblablement de la dérégulation dans les cellules tumorales d'une fraction du génome responsable de la synthèse d'un antigène embryonnaire. L'antigène tumoral a été appelé pour cette raison l'antigène carcinoembryonnaire.

C'est à partir de cette antigénicité nouvelle des cellules cancéreuses qu'a été formulé le concept de la surveillance immunitaire proposé par L. THOMAS et F.M. BURNET (90) : "au niveau des cellules somatiques surviennent des mutations dont certaines entraînent la transformation maligne d'une cellule et de sa descendance. Les cellules malignes sont antigéniques ; celles qui sont fortement antigéniques seront détruites par le système immunitaire. Le développement d'une tumeur ne pourra survenir que si la cellule transformée est faiblement antigénique et ne stimule pas de réponse immunitaire efficace, ou si le système immunitaire est défaillant". (voir figure N° 7).

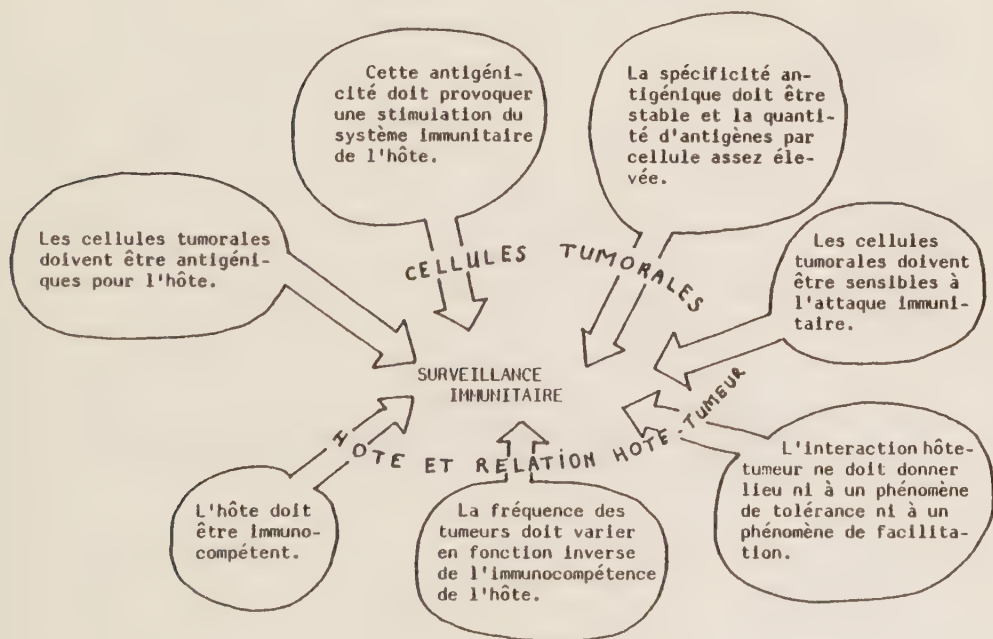


Figure N° 7 : CONDITIONS DE LA SURVEILLANCE IMMUNITAIRE (D'après J.C. SALOMON, La Recherche, Juillet 1975).

Différenciation

Reconnaissance des
antigènes TSTA

Prolifération des lymphocytes
activés et recirculation

Action
anti-
tumorale

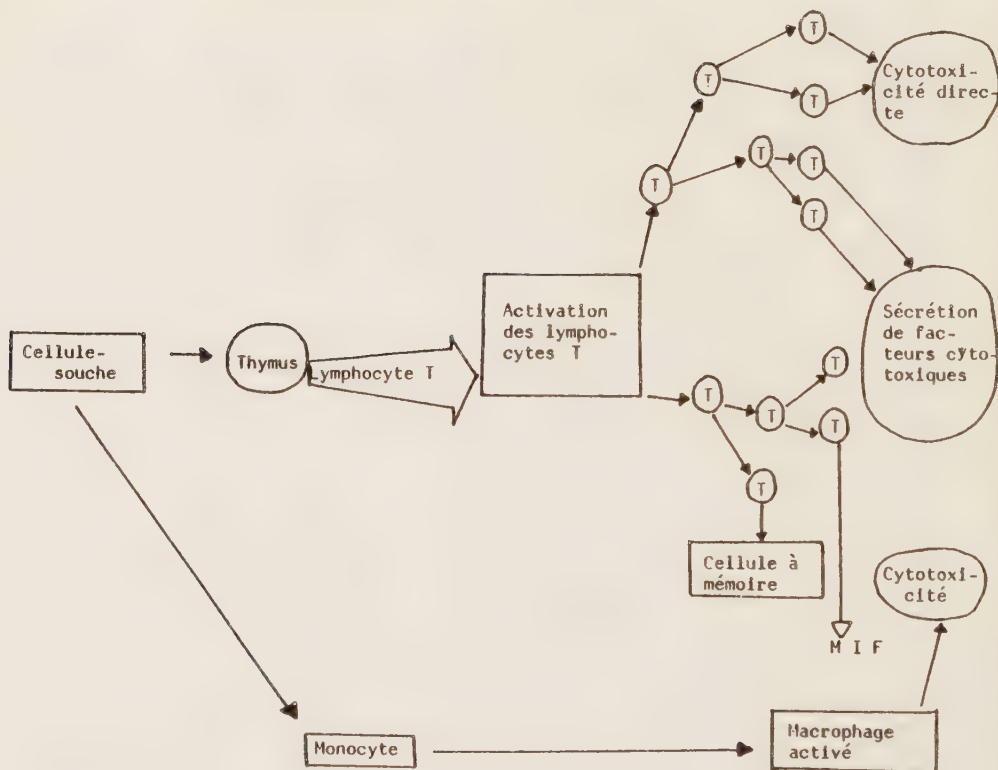


Figure N° 8 : LA REPONSE IMMUNITAIRE A MEDIATION CELLULAIRE QUI INTERVIENT AU COURS DE LA SURVEILLANCE IMMUNITAIRE COMPORTE QUATRE TEMPS SUCCESSIFS (D'après J.C. SALOMON, La Recherche, Juillet-Août 1975).

.../...

Commentaires de la Figure N° 8 :

- Les cellules souches de la moelle osseuse vont donner naissance à des lymphocytes porteurs de sites de reconnaissance spécifiques et à des monocytes. Une catégorie de cellules lymphoïdes de la moelle migre à travers le thymus vers les ganglions lymphoïdes et la rate, où ils s'accumulent ; ce sont des lymphocytes T. Ils sortent de ces organes pour circuler dans les tissus empruntant les canaux lymphatiques et sanguins, pour revenir dans les ganglions et la rate.

- Lors de ce périple, ces lymphocytes T peuvent entrer en contact avec les cellules tumorales. Les lymphocytes T porteurs de sites de reconnaissance correspondant aux antigènes spécifiques situés sur la membrane des cellules tumorales, sont alors "activés" par ce contact.

- Les lymphocytes spécifiques activés vont se multiplier dans les ganglions et la rate, et donner naissance soit à des cellules à mémoire, soit à des cellules cytolytiques. Les lymphocytes à mémoire vont être stockés dans les organes lymphoïdes ; leur durée de vie est longue. Les lymphocytes T activés cytotoxiques vont migrer vers la tumeur et s'y accumuler ; ils vont sur place agir par cytotoxicité directe ou en sécrétant des facteurs cytolytiques destructeurs des cellules tumorales. De surcroît, en présence des antigènes tumoraux, les lymphocytes vont sécréter diverses substances, dont le Migration Inhibiting Factor (MIF), qui immobiliseront au niveau de la tumeur les monocytes, les transformeront en macrophages et stimuleront leur pouvoir cytotoxique non spécifique. L'action non spécifique des macrophages amplifie l'action destructrice antitumorale spécifique des lymphocytes.

.../...

2 - LES DEUX MECANISMES DE DEFENSE DE L'ORGANISME A L'EGARD D'UNE TUMEUR.

2.1 - L'immunité spécifique :

La reconnaissance des cellules tumorales déclenche :

1 - une réponse immune entraînant l'apparition d'anticorps. Ces anticorps peuvent être relativement puissants pour assurer une protection contre la réapparition ultérieure du même clone malin ; il peut s'agir également d'anticorps faibles mais cependant efficaces par l'intermédiaire d'une réaction d'immunité cellulaire dépendante de l'anticorps, du type des réactions à cellules K (= cellules T "Killer") ou à macrophages.

2 - Une action cytolytique directe grâce aux cellules T cytolytiques mais dont la capacité d'action est facilement dépassée. Le destin des tumeurs se décide probablement à ce stade : les tumeurs franchement antigéniques sont éliminées et ne sont jamais cliniquement détectables alors que les tumeurs peu ou non antigéniques franchissant ce stade n'auraient pratiquement plus de chances ensuite d'être éliminées par les processus immunitaires (voir figure N° 8).

2.2 - L'immunité non spécifique :

C'est la réaction macrophagique non spécifique. Elle semble accompagner le développement de la tumeur et participer, notamment à la nécrose cellulaire et aux phénomènes inflammatoires. On retrouve fréquemment à l'intérieur des tumeurs en voie de rejet, des macrophages activés au voisinage des cellules T. Il existe en plus, chez de nombreux sujets normaux et dans toutes les espèces étudiées y compris l'homme, une activité cytotoxique naturelle antitumorale ("Natural Killer" ou NK) (55). Elle semble due à des cellules du type des lymphocytes "nuls" (ni T ni B). Son mécanisme est loin d'être élucidé et on pourrait rattacher la spécificité de l'activité NK aux anticorps naturels circulants qui seraient capables de réagir pour une raison encore inconnue avec de nombreuses cellules tumorales. Certains travaux expérimentaux ont suggéré un lien entre l'activité NK (spontanée) de certaines souches de souris et leur aptitude à rejeter des tumeurs greffées.

.../...

3 - MECANISMES D'ECHAPPEMENT.

L'immunité antitumorale qui se développe chez l'hôte est le plus souvent faible ou nulle et varie suivant des facteurs liés à la tumeur elle-même et à l'hôte.

3.1 - Facteurs tenant à la tumeur :

3.1.1 - Pouvoir immunogène et vitesse de croissance : on a vu que les antigènes apparaissant à la surface des cellules tumorales sont comparables à des antigènes d'histocompatibilité faible dont le pouvoir immunogène est réduit ; il s'ensuit alors une compétition entre la vitesse de croissance de la tumeur et l'immunisation de l'hôte, le nombre de cellules tumorales devenant rapidement supérieur aux possibilités de rejet de l'organisme. La greffe de cellules tumorales chez un animal immunocompétent illustre bien ce phénomène :

- La greffe de 10 000 cellules tumorales est rejetée dans 100 % des cas.
- La greffe de 100 000 cellules tumorales réussit dans environ 50 % des cas.
- La greffe de 1 000 000 de cellules tumorales réussit dans près de 100 % des cas.

L'absence totale d'antigénicité est rarement réalisée pour les tumeurs virales et chimiques. La plupart des tumeurs étudiées expérimentalement portent des antigènes. Par contre, l'absence totale d'antigénicité n'est pas exceptionnelle pour des tumeurs spontanées.

3.1.2. - L'immunosélection : la sélection, au cours des réactions immunitaires d'une population de cellules faiblement antigéniques semble possible, aboutissant à la persistance de clones cellulaires immunorésistants. Ce phénomène a été prouvé par les greffes en série des tumeurs chez des animaux immunisés. Le passage successif des cellules tumorales aboutit à la sélection de cellules pratiquement dépourvues d'antigènes, capables de résister aux réactions immunitaires de l'hôte. Le mécanisme de l'immunosélection existe sans doute également dans le cas des cancers spontanés et des cancers induits. Selon certains auteurs, il expliquerait en partie le succès ou l'échec de l'implantation métastatique des cellules tumorales dans un ganglion ou dans un parenchyme : seules, les cellules faiblement antigéniques seraient capables de survivre et de se multiplier, les autres cellules étant éliminées par les réactions immunitaires de l'hôte.

3.1.3 - La formation de facteurs bloquants : ces facteurs bloquants peuvent être soit des complexes anticorps-néoantigènes tumoraux, soit des antigènes libres. Leur libération massive par une tumeur serait une des voies par lesquelles celle-ci peut échapper à la "surveillance" du système immunitaire.

Dans certains cas, on a émis l'hypothèse de l'existence d'un facteur sécrété par certaines cellules tumorales, transplantées expérimentalement, qui pourrait inhiber la migration des macrophages vers le foyer tumoral, et éventuellement exercer un effet toxique sur ces macrophages.

Un tel facteur pourrait alors retarder la reconnaissance des cellules malignes par les macrophages et le déclenchement de la réaction immunologique.

3.2 - Facteurs tenant à l'hôte :

3.2.1 - Tolérance immunitaire : la tolérance immunitaire est l'absence de réactions immunitaires vis-à-vis d'un antigène étranger, consécutive au contact de l'organisme avec cet antigène au cours de la vie embryonnaire. Ce phénomène est invoqué pour expliquer l'apparition de cancers induits par des virus ARN transmis verticalement de la mère au fœtus.

3.2.2 - L'immunodépression : elle paraît jouer un rôle essentiel dans le développement des cancers spontanés ;

- On a pu constater l'augmentation de la fréquence des cancers chez des individus atteints de déficits immunitaires congénitaux ou soumis à un traitement immunodépresseur prolongé (individus porteurs d'un rein greffé par exemple).
- Expérimentalement, les réponses aux différents tests permettant d'apprécier l'immunité à médiation cellulaire (tests allergiques, BCG, tuberculine) sont diminués ou nuls chez les cancéreux, notamment lors de processus de généralisation du cancer. On a pu montrer également que la greffe de tumeurs hétérogènes chez des volontaires cancéreux et non cancéreux est toujours rejetée chez les non cancéreux, et que par contre, elle réussit chez des cancéreux, notamment chez des malades ayant atteint la phase terminale de la maladie. C'est précisément dans ce cadre que se situe notre travail : le but de ce travail est donc de vérifier l'existence ou l'absence d'effets immunodépresseurs propres aux PCB, c'est-à-dire à des doses inférieures à celles provoquant des effets toxiques

.../...

généraux tels qu'une baisse de l'état général qui entraîne fréquemment une dépression immunitaire non spécifique. Cette étude peut permettre également de vérifier si des doses faibles, comparables à celles que l'on rencontre dans des conditions naturelles, sont susceptibles d'influer sur les processus immunitaires de l'homme ou des animaux et de favoriser ainsi le déclenchement de certaines maladies ou l'apparition de tumeurs "spontanées".

3.2.3 - La facilitation immunologique : il y a apparition d'anticorps qui facilitent la croissance tumorale au lieu de la ralentir ou de l'inhiber. Ce phénomène est sous la dépendance d'anticorps circulants, les anticorps facilitants. Le mode d'action des anticorps de facilitation est encore imparfaitement connu ; on admet que ceux-ci se fixent sur les sites antigéniques des cellules sans être capables de détruire ces dernières et les protégeaient contre les lymphocytes immuns.

Le rôle de la facilitation dans l'évolution des cancers spontanés est encore imprécis mais existe ; le traitement de malades porteurs de tumeurs de Burkitt par l'immunothérapie passive (c'est-à-dire par injection de sérum anti tumeur) s'est accompagné d'une accélération de la croissance tumorale.

BILAN :

De ces rappels des mécanismes de l'immunité antitumorale, on peut souligner ces trois points :

- La transformation maligne d'une cellule s'accompagne de modifications de sa membrane cellulaire. Celles-ci se traduisent notamment par l'apparition de nouveaux déterminants antigéniques.

- Ces "néoantigènes" peuvent être immunogènes pour l'individu qui porte la tumeur.

- En dépit de cette réponse, une tumeur peut apparaître chez un individu grâce à des mécanismes d'échappement à la surveillance immunitaire.

- TROISIEME PARTIE -

III - ETUDE DES EFFETS CANCEROGENES DES PCB CHEZ LA SOURIS ET DES EFFETS DE LA CONTAMINATION PAR LES PCB SUR LA SENSIBILITE DE LA SOURIS A UNE TUMEUR : L'ASCITE TUMORALE D'EHRICH.

1 - PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

1.1 - Choix de l'espèce animale :

En plus des qualités d'élevage bien connues de la souris, il était intéressant de travailler sur cette espèce rarement utilisée par les chercheurs travaillant sur la toxicité des PCB.

1.2 - Choix de la tumeur expérimentale :

Caractéristiques de la tumeur liquide d'EHRICH : la tumeur liquide d'EHRICH (ou ascite tumorale) utilisée dans cette étude provient de l'Institut Pasteur de Lyon (Centre expérimental du Poirier). Elle est maintenue dans notre laboratoire par transplantation hebdomadaire sur souris par injection intrapéritonéale de 0,5 ml environ de liquide ascitique provenant d'une souris porteuse. L'injection intrapéritonéale produit une tumeur ascitique chez tous les animaux avec un temps moyen de survie de 7 à 10 jours. L'inoculation sous-cutanée d'un faible volume (0,2 ml) de liquide ascitique provoque le développement de tumeurs sous-cutanées solides chez tous les animaux inoculés. Les tumeurs deviennent palpables en 3 à 5 jours et tuent les animaux à partir de 10 jours environ. Néanmoins, au bout de 12 à 15 jours, une régression tumorale survient sur une proportion variable d'animaux.

Raisons de ce choix : les "avantages" de cette tumeur sont évidents :

- Elle est facile à manipuler et à entretenir.
- Elle a un pouvoir pathogène bien défini : elle est létale pour la souris en 10-15 jours.
- Elle est facile à caractériser puisque, à l'aide d'un pied à coulisse, on peut mesurer la longueur et la largeur de la tumeur, ce qui permet de déterminer une surface théorique, retenue comme indice de la croissance tumorale.

1.3 - Matériel et méthodes :

Animaux d'expérimentation : les contaminations expérimentales sont réalisées sur des souris SWISS femelles de 18-20 grs, provenant du Centre d'élevage des Oncins (I.F.F.A. CREDO). Les animaux sont regroupés par cages de 20 individus. Après une période d'acclimation de 8 jours, ils reçoivent des aliments supplémentés en PCB.

Supplémentation de l'alimentation en PCB : trois concentrations de DP 5* sont réalisées dans l'aliment :

- Une concentration forte : 250 ppm.
- Une concentration moyenne : 50 ppm.
- Une concentration faible : 10 ppm.

Les aliments supplémentés (type "bouchons") ont été préparés par les Etablissements UAR en homogénéisant un aliment farine avec les solutions éthanoliennes correspondantes de DP 5, puis en effectuant après évaporation du solvant une regranulation. L'aliment témoin est préparé de la même façon avec un volume identique d'éthanol pur.

Les dosages de DP 5 effectués par extraction hexanique et analysés en chromatographie en phase gazeuse (CPG) ont permis de retrouver à ± 2 ppm les teneurs annoncées. Les dosages de contrôle effectués après environ 6 mois de stockage et utilisation des aliments ont montré qu'il n'y avait pas de variation notable des teneurs.

*L'échantillon du PCB, le DP 5, a été aimablement fourni par PRODELEC-FRANCE.

Quatre lots de souris sont constitués avec 20 souris par lot :

- un lot témoin,
- un lot 10 ppm,
- un lot 50 ppm,
- un lot 250 ppm.

Les animaux reçoivent ad libitum l'aliment traité et de l'eau de conduite normale.

La consommation d'aliment dans les différents lots est déterminée hebdomadairement. Le gain de poids des animaux est enregistré par pesée hebdomadaire pendant

.../...

la phase de croissance rapide, puis bimensuelle lors de la phase stationnaire. En début de contamination, le poids moyen des souris est de 22,5-24,5 grammes. La durée de la contamination expérimentale est de 120 jours pour tous les lots.

2 - ETUDE DES EFFETS CANCEROGENES DU DP 5 CHEZ LA SOURIS.

2.1 - Méthodes d'étude :

Les observations des effets cancérogènes du DP 5 ont porté sur les souris mortes au cours de l'expérimentation "Tumeur d'EHRlich" et sur les souris sacrifiées après l'expérimentation. Cette étude n'avait pas été définie par un protocole particulier. En effet, au lieu de sacrifier les souris survivantes aussitôt après la fin de l'expérimentation "Tumeur d'EHRlich", nous avons décidé de les laisser vivre durant une période suffisamment longue (400 jours) pour observer les effets cancérogènes des PCB. Ceci explique pourquoi les nombres d'animaux sur lesquels ont porté nos observations, sont différents selon les lots. Les observations ont porté sur 46 animaux répartis comme suit :

- 8 animaux dans le lot témoin,
- 12 animaux dans le lot 10 ppm,
- 16 animaux dans le lot 50 ppm,
- 10 animaux dans le lot 250 ppm.

La durée de la contamination a été de 120 jours, et nous avons sacrifié les souris survivantes 400 jours après (les premières souris sont mortes 12 mois après la fin de la contamination).

Au cours de l'autopsie des souris, nous avons noté les lésions macroscopiques et nous avons prélevé le foie et la rate afin de pratiquer des examens histopathologiques.

2.2 - Résultats :

(Voir les tableaux N° 4 et N° 5).

. Macroscopiques : le nombre de tumeurs observées dans chacun des lots est noté dans le tableau N° 4.

LOT	HEPATOMES (Nombre et pourcentage)	AUTRES TUMEURS
TEMOIN (8 souris)	1 . Soit 12,5 %	-
10 ppm (12 souris)	-	1 leucose 1 tumeur ovarienne
50 ppm (16 souris)	-	3 leucoses
250 ppm (10 souris)	10 . Soit 100 %	-

Tableau N° 4 : OBSERVATIONS NECROPSIQUES SUR LES SOURIS CONTAMINEES
PAR LE DP 5 DURANT 120 JOURS ET AUTOPSIEES 400 JOURS APRES.

LOT	POIDS DU FOIE (g)	POIDS DU CORPS (g)	RAPPORT HEPATOSOMATIQUE - (En %)		
TEMOIN (8 souris)	m = 1,72	m = 33	m = 0,05	Soit	5 %
10 ppm (12 souris)	m = 2,95	m = 34,9	m = 0,084	Soit	8,4 %
50 ppm (16 souris)	m = 2,73	m = 33,17	m = 0,082	Soit	8,2 %
250 ppm :					
Souris N° 1	13,95	42,2	0,33	Soit	33 %
Souris N° 2	11,72	37,6	0,31	Soit	31 %
Souris N° 3	9,22	37,2	0,26	Soit	26 %
Souris N° 4	11,2	38,2	0,29	Soit	29 %
Souris N° 5	9,85	34,0	0,29	Soit	29 %
Souris N° 6	8,6	31,4	0,27	Soit	27 %
Souris N° 7	12,3	40,5	0,30	Soit	30 %
Souris N° 8	9,8	38,4	0,255	Soit	25,5 %
Souris N° 9	10,6	39	0,27	Soit	27 %
Souris N° 10	14,1	37,7	0,37	Soit	37 %
Moyenne	11,2	37,7	0,295	Soit	29,5 %

Tableau N° 5: POIDS MOYENS DU FOIE ET DU CORPS DES SOURIS CONTAMINEES
PAR LE DP 5 DURANT 120 JOURS ET AUTOPSIEES 400 JOURS APRES.

. Examens histopathologiques : les foies des souris ayant reçu 250 ppm de DP 5 sont très hypertrophiés (certains foies pouvant représenter jusqu'au quart du poids total de la souris) ; ceci est dû à la surcharge graisseuse et à la présence de nodules plus ou moins gros, souvent de couleur différente.

Ces nodules ou hépatomes sont des masses tumorales dues à la prolifération des hépatocytes. A l'examen microscopique, on reconnaît les nodules bien délimités et de couleur différente. Au sein de ces nodules, l'architecture lobulaire a disparu et les hépatocytes, plus ou moins différenciés, sont disposés en travées (il y a superposition de plusieurs couches de cellules). Dans ces nodules, on remarque :

- que les espaces portobiliaires sont absents ainsi que les veines centrolobulaires,
- qu'il y a une anisocytose, c'est-à-dire une superposition de cellules différentes en taille et qu'au sein de ces cellules, le cytoplasme est basophile, les noyaux sont très différents en taille (on parle d'anisocaryose) et le nucléole est granuleux,
- qu'il existe des inclusions de triglycérides dans les cellules (qui expliquent la couleur pâle des nodules),
- qu'il y a très peu de mitoses.

Tous ces caractères ont permis de conclure à des carcinomes hépatocellulaires ou hépatomes malins.

2.3 - Discussion :

A partir de nos observations, nous pouvons conclure :

- Les PCB exercent un effet cancérigène, effet qui, chez les souris est dirigé uniquement contre le foie, siège principal du métabolisme de ces composés. C'est donc à son niveau qu'apparaissent les métabolites toxiques qui entraînent des mutations somatiques à l'origine de la transformation des cellules.
- L'effet cancérigène des PCB ne s'exerce qu'à des concentrations élevées et après un temps de contamination relativement long (120 jours). Après la contami-

.../...

nation, le temps de latence nécessaire à l'apparition de ces tumeurs est également très long (la première souris '250 ppm' est morte 12 mois après la fin de la période de contamination).

- Nous n'avons pas observé de métastases ; on sait en effet que ces carcinomes hépatocellulaires ont peu tendance à produire des métastases. Lorsqu'elles existent, les métastases peuvent siéger dans les ganglions hépatiques, les poumons ou le péritoine.

Nos résultats, bien que très partiels, se superposent aux résultats obtenus par d'autres équipes. Les travaux des chercheurs, ayant étudié les effets cancérogènes des PCB ont été rassemblés dans un volume édité par l'International Agency for Research on Cancer (IARC) - volume 18, Octobre 1978. Nous avons synthétisé l'ensemble de ces résultats dans le tableau N° 6 , (40).

D'après ces données, nous pouvons dégager les points suivants :

- Les effets cancérogènes des PCB ne se manifestent qu'avec de fortes concentrations et après un temps de contamination assez long.
- L'organe cible est le foie.
- Il existe une différence de l'incidence des tumeurs hépatiques selon le sexe : il semblerait que les femelles soient plus sensibles aux effets cancérogènes des PCB.

2.3.1 - Etudes épidémiologiques chez l'homme : ces études ont porté notamment sur les morts apparues après la catastrophe survenue au JAPON (51-52) : 9 des 22 morts étaient dues à des cancers. Trois de ces tumeurs étaient localisées à l'estomac, une sur le foie associée à une cirrhose, deux aux poumons et une au sein, et deux d'entre elles étaient des leucémies.

Dans une autre étude réalisée par BABN et Coll (6), deux mélanomes malins furent diagnostiqués parmi trente et un travailleurs hautement exposés à l'Arochlor 1254 et probablement à d'autres substances chimiques. Trois autres personnes développèrent un cancer, dont deux un cancer du pancréas.

.../...

ESPECE, RACE ET SEXE DES ANIMAUX UTILISES	DUREE DE LA CONTAMINATION	NOMBRE D'ANIMAUX SUR LESQUELS L'EXPERIENCE A PORTE	P.C.B. UTILISE ET DOSE EN mg/kg D'ALI- MENTS	INCIDENCE DES TUMEURS
KINGBROUGH et Coll. 1972	8 mois	Groupes de 10 mâles et 10 femelles	AROCHLOR 1260 0 20 100 500 1000 AROCHLOR 1254 0 20 100 500 1000	ADENOMIOMES Mâles - - - 2 - - 3 10 10 Femelles - 4 4 4 4 - 4 9 10
KIMURA et BABA 1973	6 mois	Groupes de 10 mâles et 10 femelles	KANECHLOR 400 0 616	HEPATOMES Mâles - - Femelles - 6
ITO et Coll. 1974	7 mois	Groupes de 30 rats mâles	KANECHLOR 300 100 KANECHLOR 400 100 500 1000 KANECHLOR 500 100 500 1000	HYPERPLASIE CHOLANGIOMES 1 - 2 2 3 3 5 8
KINGBROUGH et Coll. 1975	22 mois	2 groupes de 200 rattes	AROCHLOR 1260 0 100	HYPERPLASIE HEPATOMES - 144 1 26
KINGBROUGH et LINDER 1975	6 mois	1 groupe de 50 souris	AROCHLOR 1254 300 AROCHLOR 1254 300	HEPATOMES 1 ADENOMIOMES 22 HEPATOMES 9

Tableau N° 6 : RESULTATS OBTENUS PAR DIFFERENTS AUTEURS LORS DE L'ETUDE DES EFFETS CANCEROGENES DES PCB.

De hauts niveaux de contamination par les PCB n'ont été retrouvés qu'exceptionnellement chez des travailleurs utilisant et manipulant ces produits et chez les personnes qui avaient consommé accidentellement de l'huile de riz contaminée par du Kanechlor 400, au Japon (51-52).

2.3.2 - Comparaison du pouvoir cancérogène des PCB et de celui des autres organochlorés : les données concernant le pouvoir cancérogène des autres organochlorés ont été rassemblées dans le tableau N° 7. Ces résultats sont extraits du volume N° 5 (Octobre 1973) édité par l'International Agency For Research on Cancer (39).

D'après ces résultats, nous retrouvons, pour les organochlorés que nous avons étudiés, les mêmes caractéristiques que nous avons dégagées pour les PCB. En effet,

- la localisation préférentielle des tumeurs induites par les différents organochlorés est le foie,
- les doses auxquelles apparaissent des effets carcinogènes sont élevées (le plus souvent supérieures à 100 ppm),
- les études épidémiologiques faites chez des populations soumises à un haut risque de contamination par ces composés, n'ont pas permis la mise en évidence d'une très nette corrélation entre l'exposition aux organochlorés (notamment chez les ouvriers manipulant ces composés) et l'apparition de cancers spontanés. Ceci n'exclue pas cependant un mode d'action indirect : ces composés pourraient produire des effets immunodépresseurs entraînant une augmentation de l'incidence des tumeurs.

2.3.3 - Mode d'action des cancérogènes chimiques (figure 9). Applications à l'étude du mode d'action des PCB: On admet que de nombreux cancérogènes chimiques agissent par l'intermédiaire de mécanismes génotoxiques, c'est-à-dire par interaction avec l'ADN cellulaire conduisant aux mutations. Cependant, parce qu'ils sont doués d'une stabilité chimique intrinsèque, la plupart des cancérogènes - dont les PCB - doivent subir dans l'organisme une activation métabolique qui les transforme en produits terminaux réactifs électrophiles (pseudo-charge positive). Ainsi, pour les PCB, PRESTON et COLL (72) ont montré que le 2 - 2' - 5 - 5' tétrachlorobiphényle ou TCB subissait une activation métabolique *in vivo* et *in vitro* en un ou plusieurs métabolites (via un arène oxyde) capables de se

Tableau N° 7 : COMPARAISON DU POUVOIR CANCÉROGÈNE DES PCB ET DE CELUI DES AUTRES ORGANOCHLORES.

ORGANOCHLORE	ESPECES UTILISEES	DUREE DE LA CONTAMINATION	DOSE A LAQUELLE APPARAISSENT LES EFFETS CANCEROGENES	LOCALISATION PREFERENTIELLE DES TUMEURS	TAUX DANS LA GRAISSE HUMAINE	DONNÉES EPIDEMIOLOGIQUES CHEZ L'HOMME	MODE D'ACTION REMARQUES
PCB	Souris Rat	> 6 mois < 6 mois	250 à 1000ppm > 200 ppm	Foie → hépatomes Foie → hépatomes cholangiofibrome		Mélanomes, cancers du pancréas	Rôle du degré de chloration du PCB, rôle probable des impuretés : PCDF.
ALDRIN	Souris Rat	> 1 an 2 ans	10 ppm > 2,5 ppm	Tumeurs du foie Augmentation du poids du foie		Pas de risque excessif de développement de tumeurs chez les ouvriers	L'aldrine est métabolisée en dieldrine.
ARAHITE	Rat Chien Souris	2 ans 3 ans 1/2 80 semaines en applications locales	>500 ppm par os 200 ppm..... 1000 ppm.....	Carcinomes hépatiques Cancers de la vésicule biliaire et des canaux biliaires hépatomes R.A.S.		Pas d'études épidémiologiques	Posticide utilisé aux U.S.A. uniquement.
ICH et LINDANE (ou D ICH)	Souris Rats	 2 ans	660 ppm d'un mélange des 4 isomères 500 ppm d'ICH 400 ppm γ ICH 100 ppm de γ ICH	Hépatomes Tumeurs hépatiques... Hépatomes avec quelquefois des métastases pulmonaires Rien	0,08 ppm... 0,15 ppm...	Cirrhose, hépatite chronique chez les ouvriers Jamais de cancers décrits	Lindane : perturbation de la division cellulaire en bloquant l'ascension pallaire des chromosomes.
LINURACRYLATE	Souris	80 semaines	600 ppm	Hépatomes		Pas d'études épidémiologiques	
DDT	Souris Rat	80 semaines sur 6 générations 0 à 800 ppm	> 50 ppm < 3 ppm 0 à 800 ppm	Hépatomes, lymphomes augmentation des tumeurs hépatiques, leucémies Carcinomes pulmonaires, hémoblastomes Hépatocarcinogénicité ?	0,8 ppm	Corrélation entre la teneur en DDT des tissus et l'apparition de cancers ?	Carcinogènes faibles
DDD	Souris			Tumeurs du poumon			
DDE	Souris			Hépatomes	2 ppm		
DIELDRIN	Souris Rat Chien } Singe }	2 ans 2 ans 2 ans	> 10 ppm > 50 ppm 0,05 mg/Kg	Hépatomes Nodules d'hyperplasie Pas de tumeurs	0,5 ppm	Pas de risques excessifs de développement de cancers	
HEPTACHLOR Epoxide	Quelques expériences suggèrent une hépatocarcinogénicité				0,3 ppm	Pas d'études épidémiologiques	
MIREX	Souris	70 semaines	> 20 ppm	Hépatomes			
POLYCHLOROTERPÈNES	Souris	80 semaines	> 10 ppm	Hépatomes chez les rats Syndrome lymphoprolifératif sur les animaux F ₁			

fixer aux DNA, RNA, et aux protéines hépatiques (Figure N° 11). Cette fixation aux macromolécules cellulaires, notamment au DNA et RNA, est augmentée lorsque les rats sont traités auparavant avec du phénobarbital (Le phénobarbital est un inducteur enzymatique puissant).

Ces altérations primaires du DNA disparaissent le plus souvent : la cellule possède plusieurs systèmes enzymatiques de contrôle du matériel génétique, qui sont capables de réparer l'ADN lésé :

- un système de réparation de l'ADN par excision, sur la cellule au repos : une endonucléase reconnaît la déformation anormale de la chaîne d'ADN et l'incise, aidée par une exonucléase. La réparation est effectuée par une ADN - polymérase qui fixe sur la chaîne coupée les nucléotides manquants ;
- un système de réparation post-réplcatif : cette réparation se fait lorsque la cellule est en train de répliquer son ADN, avant de se diviser en deux cellules filles. La polymérase chargée de recopier l'ADN reconnaît l'irrégularité ; la synthèse s'arrête et recommence en aval de la lésion. La brèche sera réparée par recombinaison, le morceau de chaîne manquante étant prélevé sur le brin d'ADN originel, complémentaire de celui qui a été lésé.

Lorsque les altérations du DNA ne sont pas réparées, elles peuvent alors affecter des gènes de régulation qui ont pour rôle de maintenir non fonctionnels, par le biais d'un facteur appelé le répresseur, les gènes responsables de la cancérisation. En effet, selon R. DULBECCO (26), il existerait dans la cellule normale un ou plusieurs gènes qui pourraient s'exprimer dans certaines conditions particulières, anormales et deviendraient alors responsables de la cancérisation (Figure N° 10).

Ces gènes ont été normalement fonctionnels antérieurement à un stade de développement embryonnaire et sont maintenus non fonctionnels par le répresseur.

A la suite de la mutation, les gènes de cancérisation peuvent s'exprimer et permettre ainsi la synthèse d'une enzyme, qui libérée dans le cytoplasme, va pouvoir déclencher le processus de la transformation cellulaire. Les changements observés alors dans les cellules cancéreuses portent sur différents aspects de leurs caractéristiques de croissance :

- la réponse aux substances régulatrices de croissance,
- la constitution de leurs surfaces membranaires,
- la nature de nombreuses enzymes,
- le contrôle de la glycolyse.

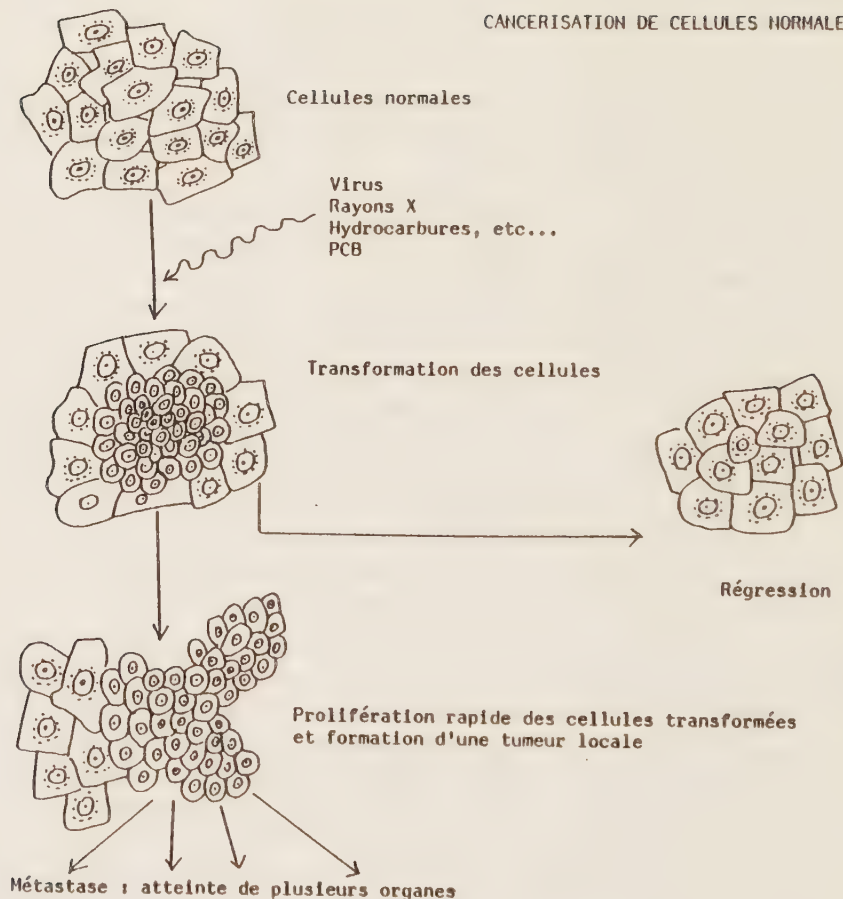


Figure N° 9 : Une cellule cancéreuse est une cellule "transformée" qui a perdu la faculté de contrôler sa division. La transformation cellulaire peut s'expliquer par l'accumulation de mutations somatiques provoquées par des agents cancérogènes présents dans l'environnement (Hydrocarbures, rayons ultraviolets, etc...) ou par l'infection de virus cancérogènes. Lorsqu'une cellule cancéreuse apparaît chez un animal, elle ne forme pas obligatoirement une tumeur. Dans la plupart des cas, elle est détruite par des réactions immunologiques. Dans quelques cas cependant, on observe une prolifération rapide des cellules transformées provoquant la formation d'une tumeur locale. Par la suite, les cellules cancéreuses migrent dans tout l'organisme et atteignent de nombreux organes. C'est la métastase cancéreuse.

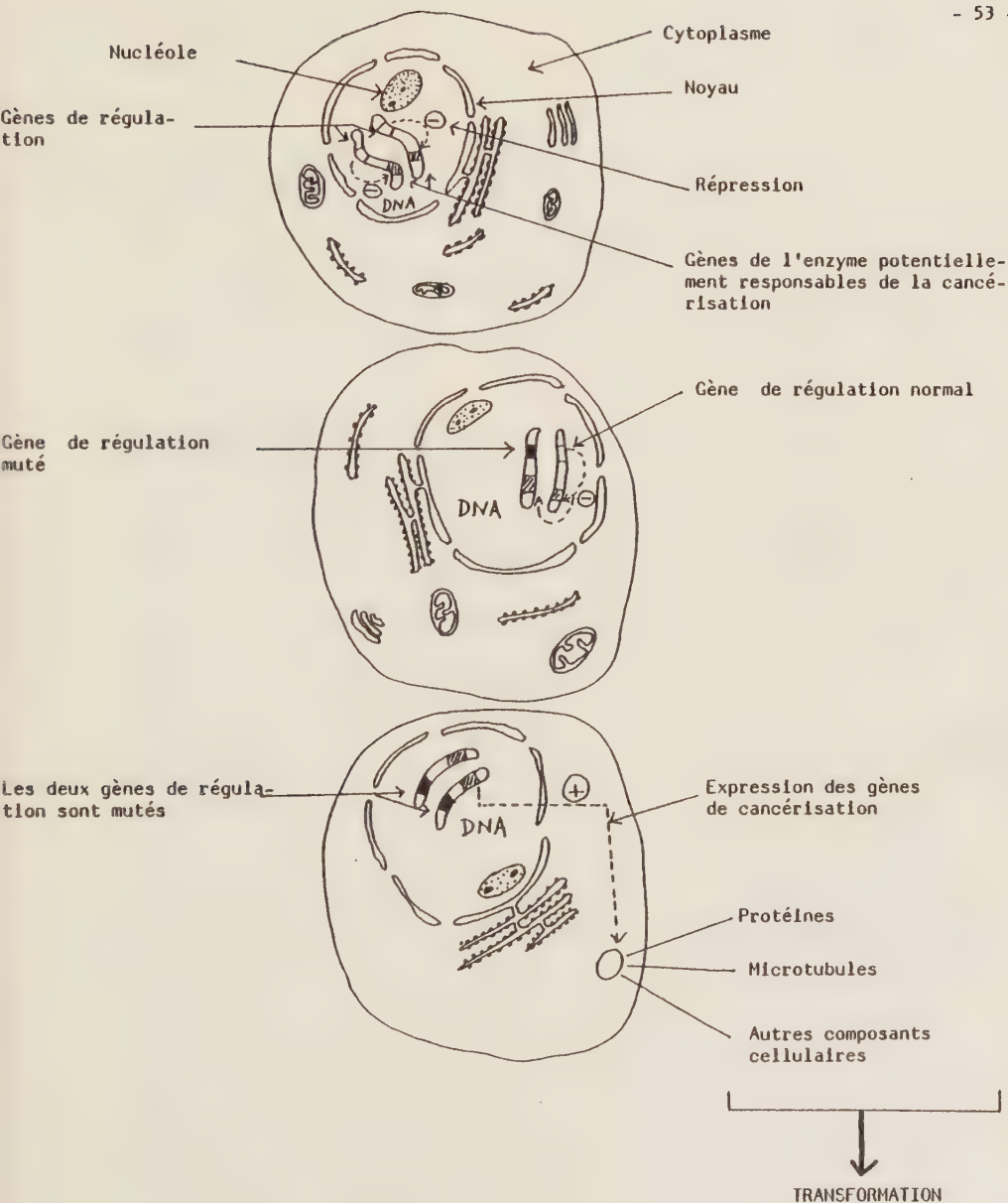


Figure N° 10 : UN MODELE DE CANCEROGENESE CHIMIQUE,
(D'après R. DUBBECCO, La Recherche, Juillet-Août 1979, p. 438).

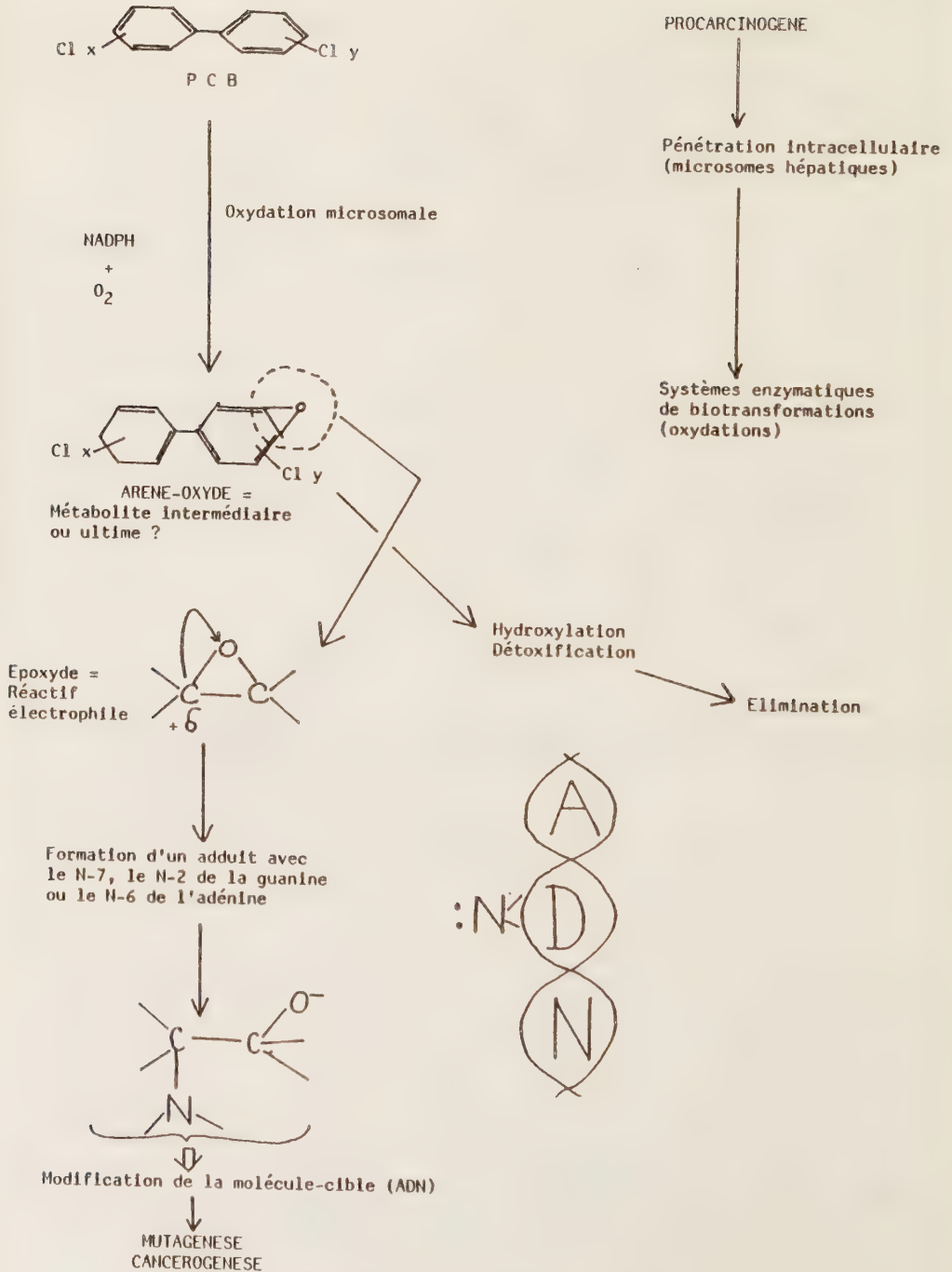


Figure N° 11 : MODE D'ACTION DES PCB.

Les cellules cancéreuses produisent souvent des substances qui ne sont pas synthétisées par les cellules normales et se comportent immunologiquement de façon anormale.

Toutes les espèces animales ne semblent pas former les métabolites intermédiaires - les arènes - oxydes - en proportions identiques (2-76) ; ceci pourrait expliquer en partie les différences interspécifiques du pouvoir carcinogène des PCB.

2.3.4 - Bilan : il existe donc bien un effet cancérigène démontré chez la souris. A partir de l'étude de leur métabolisme, nous pouvons conclure que les PCB sont probablement des cancérigènes génotoxiques (105) (voir tableau N° 8). Ils ne réagissent pas directement avec l'ADN (comme le font les agents alkylants) car ils requièrent une activation métabolique en électrophiles réactifs agissant avec l'ADN nucléophile. La manifestation de ces effets dépend d'une part de la réactivité chimique et d'autres propriétés (géométrie, liposolubilité) de l'électrophile réactif (= époxyde) en question, et d'autre part des enzymes qui contrôlent la concentration de tels époxydes.

De plus, certaines voies métaboliques mènent à des produits réactifs alors que d'autres donnent des produits de détoxification. Donc, dans la mesure où les enzymes impliquées dans la biosynthèse et le métabolisme secondaire des métabolites réactifs, diffèrent en quantité et souvent aussi en spécificité de substrat selon les organes, le stade de développement, le sexe et l'espèce de l'animal, elles représentent un facteur important contribuant aux différences de susceptibilités rencontrées dans cette étude du pouvoir carcinogène des PCB.

En outre, à des doses plus faibles que celles nécessaires pour obtenir des effets génotoxiques, les PCB, selon de nombreux auteurs - ZAJDELA (108), PRESTON (71-72), ITO (41-42)-pourraient être des promoteurs c'est-à-dire des cancérigènes épigénétiques (105) (voir tableau N° 8). Ils augmenteraient les effets cancérigènes de substances procancérigènes (tels que la diméthylnitrosamine, le 2- acétylamino fluorène), sûrement en facilitant l'activation métabolique de ces composés en métabolites ultimes réactifs. Nous verrons dans la seconde partie de ce travail que nos propres expériences nous ont permis de conclure à un effet contraire des PCB.

TYPE	MODE D'ACTION	EXEMPLES
A. GENOTOXIQUE		
1. Carcinogène primaire	Electrophile, génotoxique, interagit avec le DNA.	Ethylène imine, bis (chlorométhyl) éther.
2. Procarcinogène ou Carcinogène secondaire	Nécessite une transformation en carcinogène primaire par activation métabolique chez l'hôte ou In Vitro.	- Chlorure de vinyl, - Benzopyrène, - 2 Naphtylamine diméthylnitrosamine PCB ?
3. Carcinogène minéral	Non génotoxique directement ; conduit à des altérations du DNA, probablement par modification de la fidélité des ADN Polymérase.	- Nickel, - Chrome, - Cobalt.
B. EPIGENETIQUE		
4. Carcinogène à l'état solide	Mécanisme exact inconnu ; En général n'affecte que les cellules mésenchymateuses et les tissus.	Amiante.
5. Hormone	Généralement non génotoxique ; Altère l'équilibre du système endocrinien et la différenciation ; Agit souvent comme promoteur.	Oestradiol, Diéthylstilbestrol,
6. Immunosuppresseur	Généralement non génotoxique ; Stimule les néoplasmes viro-induits ou les métastases.	Azathioprine, Sérum antilymphocytaire. PCB ?
7. Cocarcinogènes	Non génotoxiques ou carcinogènes, mais augmentent les effets des agents de type 1 ou 2 quand ils sont administrés en même temps. Peuvent modifier la transformation des procarcinogènes en carcinogènes primaires.	Pyrène, Catécholamines, Ethanol n-dodécane, SO ₂ .
8. Promoteurs	Non génotoxiques ou carcinogènes, mais augmentent les effets des agents de type 1 ou 2 quand ils sont administrés successivement.	Phénol, Anthracène, Sels biliaires, Métabolites du tryptophane, Saccharine, PCB ?

Tableau N° 8 : CLASSIFICATION DES SUBSTANCES CHIMIQUES CANCEROGENES (D'après WEISBURGER et WILLIAMS - 1981).

Les études épidémiologiques faites chez l'homme laissent supposer qu'il existe une corrélation entre la contamination par les PCB et le développement de mélanomes malins. Les efforts de recherche doivent être poursuivis pour obtenir la confirmation de ces résultats; en particulier il est nécessaire de continuer la surveillance des survivants de l'accident de Yusho. Il conviendrait également de mettre en évidence le rôle joué par les impuretés - les polychlorodibenzofurannes ou PCDF - dans les effets carcinogènes attribués aux PCB. En attendant, pratiquement, les PCB doivent être considérés comme étant potentiellement carcinogènes, surtout si on confirme qu'ils exercent à faible dose leurs effets par des mécanismes épigénétiques ; ce type de substances peut jouer un rôle crucial et décisif dans l'apparition d'un cancer clinique envahissant chez l'homme ou l'animal.

Enfin, il reste à mentionner le rôle que semblent attribuer certains auteurs aux PCB dans l'étiologie d'hépatomes apparus chez des poissons : ainsi, MAC CAIN et Coll (58) ont retrouvé sur 20 soles anglaises pêchées dans la rivière Duramish (à Seattle dans l'Etat de WASHINGTON aux U.S.A.) des hépatomes et des teneurs élevées de PCB dans les tissus de ces poissons.

3 - EFFETS DE LA CONTAMINATION PAR LES PCB SUR LE DEVELOPPEMENT DE LA TUMEUR D'EHRlich CHEZ LA SOURIS.

3.1. - Méthodes d'étude (voir paragraphe N° 1) : technique de transplantation de la tumeur :

Au terme des 120 jours de contamination par le DP 5, les souris des différents lots sont inoculées. Le liquide d'acite utilisé pour l'inoculation est ponctionné aseptiquement sur trois souris sur lesquelles la tumeur a été greffée 9 jours auparavant. Un volume de 0,2 ml de ce liquide non dilué est injecté par voie sous-cutanée sur la ligne médiane du dos, aux souris des différents lots. Les animaux développent ainsi des tumeurs solides, sous-cutanées, qui commencent à apparaître au bout de 3-6 jours, sous formes de nodules perceptibles à la palpation. Les tumeurs sont mesurées régulièrement, à l'aide d'un pied à coulisse dans leur longueur et leur largeur, ce qui permet de déterminer une surface théorique, retenue comme indice de la croissance tumorale. La mortalité apparaît au bout d'une dizaine de jours. Les morts sont relevés quotidiennement, afin de pouvoir établir la courbe de cinétique de la mortalité dans les différents lots.

3.2 - Résultats :

3.2.1 - Evolution chronologique de la tumeur sous cutanée : au troisième jour après inoculation, les tumeurs deviennent palpables sur la plupart des souris, sous forme de "nodules" (formation tumorale de la grosseur d'une tête d'épingle ou légèrement supérieure) ou de "traces" (taille inférieure aux nodules). Le nombre de ces formations perceptibles dans les différents lots figurent dans le tableau N° 9.

	Nodules	Traces	Absences
Témoin - 0 ppm	5	10	5
10 ppm	17	2	1
50 ppm	13	7	-
250 ppm	12	6	2

Tableau N° 9 : NOMBRE DE FORMATIONS TUMORALES SOUS-CUTANÉES PERCEPTIBLES SUR LES SOURIS DES DIFFÉRENTS LOTS D'ÉTUDE (20 SOURIS PAR LOT) AU TROISIÈME JOUR APRÈS INOCULATION.

Au 14^{ème} jour après l'inoculation, toutes les souris ont développé des tumeurs sous-cutanées palpables et mesurables. Dans le tableau N° 10, figurent les surfaces moyennes des tumeurs calculées en assimilant celles-ci à un rectangle (longueur x largeur) ou à un carré.

Il n'existe pas de différence significative entre les différents lots d'étude à ce stade. Le développement est très hétérogène dans les lots témoin et 250 ppm alors que celui observé dans les lots 10 et 50 ppm est plus homogène.

.../...

	Témoïn (19 souris)	10 ppm (20 souris)	50 ppm (20 souris)	250 ppm (18 souris)
$\bar{X}$ surface (mm ²)	83	92	81	125
$\pm$ déviation standard	$\pm$ 97,5	$\pm$ 35,5	$\pm$ 36,5	$\pm$ 88,7

Tableau N° 10 : SURFACE MOYENNE DES TUMEURS SOUS-CUTANÉES DANS LES DIFFÉRENTS LOTS (DIFFÉRENCE NON SIGNIFICATIVE) AU 14^{ème} JOUR APRES INOCULATION.

Après 16-17 jours, une régression tumorale s'observe en proportion importante chez les animaux survivants, ainsi que le montre le tableau N° 11, dans lequel sont notées la présence ou l'absence de tumeurs mesurables, ainsi que le nombre de tumeurs non mesurables ("traces") dans les différents lots, au 30^{ème} jour après inoculation.

	Absence tumeur	Présence tumeur	Traces
Témoïn (16 souris)	9	6	1
10 ppm (20 souris)	11	5	4
50 ppm (20 souris)	12	4	4
250 ppm (17 souris)	8	8	1

Tableau N° 11 : PRÉSENCE OU ABSENCE DE TUMEURS SOUS-CUTANÉES DANS LES DIFFÉRENTS LOTS, AU 30^{ème} JOUR APRES INOCULATION.

Dans le tableau N° 12, sont notées les surfaces moyennes des tumeurs subsistantes au 30ème jour.

	Témoïn (9 tumeurs)	10 ppm (5 tumeurs)	50 ppm (4 tumeurs)	250 ppm (8 tumeurs)
$\bar{X}$ surface (mm ²)	285	33,2	104	198
$\pm$ déviation standard	$\pm$ 322	$\pm$ 20,3	$\pm$ 139	$\pm$ 213

Tableau N° 12 : SURFACES MOYENNES DES TUMEURS SUBSISTANTES DANS LES DIFFERENTS LOTS AU 30ème JOUR APRES INOCULATION.

Au 120ème jour après inoculation, toutes les souris survivantes ont "rejeté" la tumeur (sauf un individu dans le lot 10 ppm), soit 10 souris pour le lot témoin, 19 souris pour le lot 10 ppm, 19 souris pour le lot 50 ppm, 13 souris pour le lot de 250 ppm.

3.2.2. : Mortalité observée : les pourcentages de mortalité au 120ème jour après l'inoculation sont notés dans le tableau N° 13. La cinétique de mortalité dans les différents lots est représentée dans la figure N° 12 (courbe de mortalité cumulée par rapport au temps).

	Témoïn	10 ppm	50 ppm	250 ppm
TAUX DE MORTALITE au bout de 120 jours (en % du nom- bre de souris ino- culées)	50	5	5	35

Tableau N° 13 : TAUX DE MORTALITE (EN %) DANS LES DIFFERENTS LOTS AU BOUT DE 120 JOURS APRES L'INOCULATION.

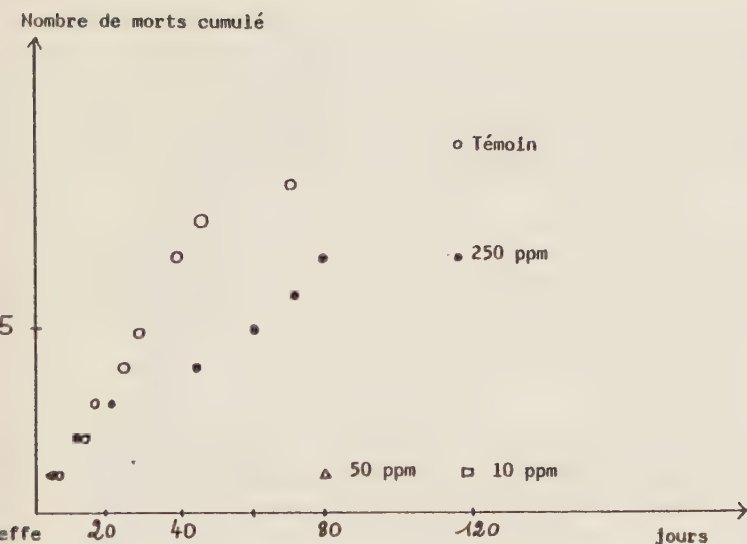


Figure N° 12 : COURBE DE CINETIQUE DE MORTALITE APRES INJECTION DE LA TUMEUR LIQUIDE D'EHRlich AUX SOURIS DES DIFFERENTS LOTS D'ETUDE.

3.3 - Interprétation des résultats :

Pour ce faire, nous envisagerons trois paramètres : la croissance tumorale, le rejet des tumeurs, le taux et la cinétique de mortalité.

3.3.1 - La croissance tumorale : le développement des tumeurs après injection sous-cutanée des cellules tumorales est plus rapide chez les animaux traités que dans le lot témoin (contrôle au 3ème jour). Mais dès le 10-12ème jour, les vitesses de développement s'homogénéisent pour les animaux témoins, 10 ppm, 50 ppm alors que la croissance reste très forte pour le lot de 250 ppm (contrôle du 14ème jour). Au 30ème jour, les tumeurs restent importantes dans les lots témoins et 250 ppm, alors que pour la plupart des animaux 10 et 50 ppm, les tumeurs sont en régression ou déjà lysées.

3.3.2 - Le rejet des tumeurs : la proportion de régression et rejet tumoraux est un paramètre intéressant à considérer ; chez de nombreux animaux des différents lots, la croissance tumorale s'arrête au bout du 15-16ème jour, puis la taille des tumeurs régresse très rapidement. Le pourcentage de rejet s'est avéré particulièrement important dans les lots 10 et 50 ppm (95 % par rapport au nombre d'animaux inoculés) ; il est beaucoup plus faible dans le lot 250 ppm (65%) et dans le lot témoin (50 %).

3.3.3 - La mortalité : l'observation de la mortalité provoquée par le développement des tumeurs montre nettement la différence de sensibilité entre les animaux des différents lots, et se superpose à la croissance tumorale observée dans chacun des lots ; donc la mortalité a été très forte dans les lots où la croissance tumorale est la plus forte, c'est-à-dire dans les lots témoin et 250 ppm - au contraire, dans les lots 10 ppm et 50 ppm, nous n'avons relevé qu'un seul mort.

Au bilan, les PCB ont donc exercé un effet protecteur des souris vis-à-vis de la tumeur d'EHRlich inoculée par voie sous-cutanée, au moins aux doses moyennes (10 et 50 ppm), par rapport aux animaux témoins.

3.4 - Discussion :

Cette étude de la sensibilité de la souris à la tumeur d'EHRlich après ingestion de PCB a été entreprise pour essayer de mettre en évidence les effets immunodépresseurs des PCB vis-à-vis des tumeurs.

Plusieurs travaux ont démontré le pouvoir immunodépresseur de ces composés par diminution de l'immunité à médiation humorale et cellulaire : on aurait pu s'attendre à ce que les PCB favorisent le développement des processus cancéreux. Dans cette discussion donc, après avoir rappelé les principaux travaux ayant trait au pouvoir immunodépresseur des PCB, nous comparerons nos résultats avec ceux obtenus par les auteurs ayant étudié les relations PCB - CANCER.

3.4.1 - Les effets immunodépresseurs des PCB : ceux-ci ont été recherchés par de nombreuses équipes utilisant des modèles et protocoles expérimentaux variés, et peuvent être regroupés en deux parties :

- action des PCB au niveau des organes lymphoïdes,
- action des PCB sur la réponse immunitaire.

- Action des PCB au niveau des organes lymphoïdes, périphériques et centraux : VOS (103), le premier, a observé chez le cobaye une atrophie de la rate et du thymus après absorption de PCB. Cette atrophie de la rate et du thymus a été également retrouvée chez le lapin lorsqu'on injectait les suspensions de PCB par voie sous-cutanée (VOS et BEEMS) (97).

HARRIS et Coll (34) ont distribué dans l'alimentation de poulettes Leghorn de l'Arochlor 1016, 1232, 1242 et 1254, à des taux variables (0, 10, 20 ppm) et

.../...

ont constaté outre une baisse de la courbe de ponte, une très nette diminution du poids de la rate et de la bourse de Fabricius chez les poussins d'un jour issus de poulettes contaminées. Cette différence de poids des organes lymphoïdes était encore plus nette chez les poussins âgés de trois semaines.

Autre exemple, chez les mammifères : ALLEN et BARSOTTI (4) ont obtenu une sévère hypoplasie de la rate, du thymus et de la moelle osseuse chez des jeunes macaques Rhésus dont les parents n'avaient pourtant reçu que des doses de l'ordre de 2,5 ppm de PCB pendant plusieurs mois. L'atrophie de ces organes s'accompagne sur le plan histologique, d'une fonte du cortex thymique et d'une diminution du nombre et de la taille des follicules lymphoïdes dans la rate et les noeuds lymphatiques.

Au Laboratoire de Toxicologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON (45), nous avons étudié l'influence des PCB chez la souris, en mesurant au terme de 100 jours de contamination, le poids de la rate, du thymus et du foie, et en déterminant le rapport entre le poids de ces organes et le poids corporel.

Nous avons constaté les résultats suivants :

- Aucun effet néfaste des PCB, au niveau des organes lymphoïdes, n'a pu être observé ; les rapports splénosomatique (poids de la rate / poids total) et thymosomatique (poids du thymus / poids total) sont très voisins chez les animaux traités et chez les animaux témoins. L'étude histopathologique n'a révélé aucune différence sur les rates ou les thymus des animaux traités par rapport aux témoins.

- Une action très nette des PCB a pu être mise en évidence au niveau du foie. Cet effet traduit le tropisme hépatique des PCB et en particulier l'effet d'induction enzymatique au niveau du foie, qui semble dominant aux concentrations 10 et 50 ppm. A la concentration de 250 ppm, apparaît l'effet hépatotoxique proprement dit, comme le montrent les lésions dégénératives et la stéatose marquée observée en histologie.

Nous avons donc pu conclure à l'absence d'effets chez la souris adulte de la contamination par les PCB sur les organes lymphoïdes. Cette absence d'effets de la contamination par les PCB sur la rate et le thymus a été retrouvée chez la souris adulte par d'autres auteurs (THOMAS et HINSOILL, 1978) (91).

- Action des PCB sur la réponse immunitaire : LOOSE et COLL (57) ont constaté chez la souris une très nette diminution de la réponse immunitaire à médiation humorale ; en effet, chez des souris recevant des PCB dans leur

nourriture (100 ppm), ils ont constaté une diminution de la réponse primaire mais surtout de la réponse secondaire lors d'une stimulation antigénique. Cette modification de la réponse secondaire peut suggérer une altération au niveau de la mémoire immunologique ou au niveau de la coopération cellulaire. Les taux circulants d'IgM, d'IgG et d'IgA étaient significativement abaissés ; malgré cela, ces auteurs n'ont relevé aucune altération histologique au niveau du poumon, du thymus, des ganglions et de la rate des souris, seule une hépatomégalie a été notée.

THOMAS et Coll (91) ont étudié ces effets des PCB sur des singes Rhésus et sur des souris. Aux singes Rhésus ayant reçu 2,5 ou 5 ppm d'Arochlor 1254 dans leur ration durant six mois, (ils extériorisèrent alors les signes cliniques de l'intoxication chronique par les PCB avec alopecie, chloracné et oedème facial) ils injectent cinq mois après la contamination, des globules rouges de mouton et de la toxine tétanique à ces singes. Ils ont constaté que les singes ayant reçu 5 ppm dans leur ration avaient un taux d'anticorps anti GRs significativement inférieur aux singes du lot témoin ; au contraire, la production d'anticorps antitoxine était la même chez les animaux traités et chez les animaux témoins. Chez les souris contaminées, ils ont montré qu'elles étaient plus sensibles à *Salmonella Typhimurium* ; ils ont retrouvé chez ces souris une plus grande quantité de bactéries vivantes dans la rate, le foie et le sang que chez les souris témoins. Ils ont constaté aussi que ces souris contaminées étaient plus sensibles à l'endotoxine de cette bactérie. D'autres auteurs ont également mis en évidence une dépression de l'immunité à médiation cellulaire sur des rats et des souris ayant reçu des mélanges de PCB dans leur nourriture ; cette diminution de l'immunité à médiation cellulaire a été prouvée par l'absence de réponse à une stimulation mitogène des lymphocytes de la rate par des activateurs des lymphocytes T.

Dans le Laboratoire de Toxicologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON, KECK et Coll (46) ont pu mettre en évidence le caractère immunodépresseur des PCB, en étudiant les effets de la contamination par le DP 5 sur la sensibilité des souris à des infections bactériennes ou virales :

- avec *Klebsiella Pneumoniae*, ils ont constaté que la sensibilité des souris contaminées apparaissait légèrement supérieure à celle des animaux témoins ;
- il est apparu que la contamination augmentait la sensibilité des souris traitées à l'inoculation de *Brucella* en présence d'un adjuvant ;

- ils ont constaté une augmentation très nette de la sensibilité des souris traitées, aux effets léthaux de l'endotoxine de *Salmonella Typhimurium* ; par contre, ils ont montré que la contamination expérimentale par les PCB n'a pas modifié la sensibilité des souris traitées à l'infection par le virus de la grippe équine adapté à la souris.

La contamination expérimentale par les PCB s'accompagne donc d'une dépression significative de l'immunité à médiation humorale et à médiation cellulaire. La souris semble plus réfractaire à cette diminution de la réponse immunitaire ; il pourrait s'agir d'une différence de biotransformation des PCB, la souris formant peu de métabolites réactifs du type arène-oxyde alors que ceux-ci apparaissent de façon plus importante chez les autres espèces (cobaye, lapin, primates) (4 - 76 - 91).

3.4.2 - Les relations PCB-cancer : partant des propriétés cancérogènes et immunodépressives des PCB, un certain nombre de laboratoires ont étudié les effets de la contamination expérimentale par ces composés sur la sensibilité des animaux à différents types de cancers chimio-induits ou Viro-induits, dans l'hypothèse que les PCB pourraient augmenter l'incidence des tumeurs. Les résultats obtenus sont assez divergents et nous pouvons les classer en deux points :

- les PCB peuvent favoriser le développement des tumeurs,
- les PCB peuvent inhiber la croissance des tumeurs.

- Les PCB peuvent favoriser le développement des tumeurs : il semblerait que ce soit sur les tumeurs chimio-induites que les PCB exercent le plus volontiers leurs effets favorisants.

ITO et Coll (41 - 42) ont montré que les PCB augmentaient le développement de nodules hyperplasiques induits par le N2 acétylaminofluorène sur le foie de rats ; ces mêmes auteurs avaient déjà constaté que les PCB exerçaient une action promotrice à l'égard de certains cancers chimio-induits, notamment des tumeurs hépatiques engendrées par l'hexachlorobenzène.

NISHIZUMI et GANN (65) en 1979, ont étudié l'effet des PCB sur une tumeur hépatique induite par du diéthylnitrosamine (DEN) : ils ont constaté que la croissance de la tumeur du foie était très nettement augmentée lorsque les rats étaient contaminés par les PCB (contrairement au DDT qui lui, est sans effet sur le développement de cette tumeur chimio-induite).

Quant à UCHIUMA et Coll (93) ils ont montré que les PCB étaient sans effet sur le carcinome cervical induit par le 3 - méthyl - cholanthracène.

- Les PCB inhibent la croissance des tumeurs : outre nos travaux, qui ont montré un net pouvoir anti-tumoral vis-à-vis de l'ascite tumorale d'ENRICH inoculée à des souris, plusieurs autres travaux font état de ce pouvoir anti-tumoral des PCB.

Ainsi, HAKIURA et Coll (59) en 1974, ont montré que les PCB inhibaient la croissance d'hépatomes induits par le 3 méthyl 4 diméthylaminobenzène ou la diéthyl-nitrosamine chez le rat. Cette dernière observation est en contradiction avec les travaux de NISHIZUMI cités plus haut.

KERKVLiet et KIMELDORF (48) en 1977, ont étudié l'effet de la contamination par les PCB, (selon deux protocoles distincts : soit en ajoutant de petites quantités de PCB à la nourriture des animaux, soit en pratiquant une seule injection sous-cutanée d'une forte dose d'Arochlor 1254) avec des lots de rats mâles et femelles Sprague Dawley, sur le développement du carcinosarcome Walker 256. Ils inoculent 10^5 cellules aux animaux après 30 jours de contamination et les tumeurs sont disséquées et pesées. Ils ont ainsi constaté que l'Arochlor 1254 inhibait la croissance du carcinosarcome de Walker ; en effet :

- le poids moyen des tumeurs des animaux ayant reçu de l'Arochlor 1254 était significativement plus faible que les autres ;
- l'inhibition du développement tumoral est proportionnel aux concentrations d'Arochlor 1254.

Ce pouvoir anti-tumoral des PCB a également été retrouvé par HENDRICKS et Coll (36). Ils ont étudié les effets de la contamination des PCB avec plusieurs lots de 120 truites arc-en-ciel nourries avec un aliment contenant soit 6 ppb d'aflatoxine B_1 , soit 100 ppm d'Arochlor 1254, soit enfin 6 ppb d'aflatoxine B_1 et 100 ppm d'Arochlor 1254. Ils ont constaté à la fin de l'année d'expérimentation que 26 sur 37 soit 70,3 % de truites ayant reçu les 6 ppb d'aflatoxine avaient développé un hépatome alors que seulement 14 sur 46, soit 30 % parmi les truites ayant reçu simultanément 6 ppb d'aflatoxine et 100 ppm d'Arochlor 1254 avaient développé un hépatome : ceci montre une très nette réduction de l'incidence des tumeurs chez les truites ayant été contaminées par les PCB.

3.4.3 - Bilan : mode d'action des PCB : Au bilan, nous avons observé une action anti-tumorale du DP 5 sur la croissance de l'ascite tumorale d'ENRICH.

Sur la plupart des modèles étudiés, un effet identique a été retrouvé :

- sur les cancers chimio-induits : hépatomes au 3 méthyl 4 diméthyl aminobenzène

et à la diméthylnitrosamine chez le rat (MAKIURA et Coll, 1974) (59);hépatome à aflatoxine B₁ chez la truite (HENDRICKS et Coll, 1971) (36) ;

- sur des cancers viro-induits : carcinome de Walker par voie IM (KERVLIET et KIMELDORF, 1977) (48).

Le pré traitement par les PCB soit dans l'alimentation, soit par injection de doses plus élevées réduit de manière parfois considérable le développement tumoral.

KERVLIET et KIMELDORF (48) ont proposé deux hypothèses pour expliquer cette action antitumorale :

- Les PCB pourraient diminuer la croissance tumorale en interférant avec la néoglucogénèse de l'hôte, par inhibition de la phosphoénol pyruvate carboxykinase (PEPCK) ; le rôle de cette enzyme semble important dans la croissance tumorale : il a été montré que de nombreuses substances capables d'inhiber la PEPCK réduisent considérablement la croissance tumorale.

- Les PCB agiraient également en altérant la réponse immunitaire de l'hôte. Il existe des lymphocytes activés dit cytotoxiques capables de détruire les cellules tumorales ; or, la cytotoxicité peut être supprimée par la présence de "facteurs bloquants". Ces facteurs bloquants sont le plus souvent des anticorps ou des complexes anticorps-néoantigènes tumoraux qui, portés par les sites antigéniques des cellules tumorales, empêchent ainsi l'attaque des cellules T cytotoxiques. Les PCB agiraient alors en diminuant la production de facteurs bloquants et laisseraient ainsi intacts les sites d'attaque des cellules tumorales par les lymphocytes T cytotoxiques. Cette hypothèse est confortée par le fait que les PCB soient immunodépresseurs. Les PCB semblent agir à deux niveaux sur le système immunitaire :

. en entraînant une régression des organes immunitaires ; ce mode d'action a été démontré pour le cobaye, les primates, le poulet mais non chez la souris (46) ;

. en diminuant le nombre de cellules responsables de l'immunité notamment les lymphocytes T (LEE et PARK) (54) et les macrophages ; CONRADT et Coll (23) ont extrait des macrophages à partir du péricitone de souris et ont étudié la synthèse du RNA, utilisant dans ce but, l'incorporation d'uridine tritiée par ces cellules lors d'une stimulation non spécifique de la mitose (test de transformation lymphoblastique : TTL). Ils ont montré que cette incorporation, et donc la synthèse du RNA, reflet de la transformation lymphoblastique, étaient nettement déprimées en présence d'Arochlor 1242 à partir de 7 ppm. De plus, les macrophages sont alors moins aptes à phagocyter des particules de latex.

Cette action dépressive pourrait expliquer la dépression immunitaire, vu le rôle des macrophages dans le phénomène de "coopération cellulaire" nécessaire pour la synthèse de l'anticorps.

Les PCB immunodépresseurs agiraient donc en diminuant la synthèse des anticorps et par conséquent des facteurs bloquants, rendant ainsi possible l'attaque de la tumeur par les lymphocytes T cytotoxiques.

Il faut mentionner là un travail récent faisant état d'une activité antitumorale des polybromobiphényles (PBB) vis-à-vis de tumeurs induites par le N2 acétylaminofluorène ; les PBB ont une structure très voisine des PCB (81).

A l'inverse, d'autres travaux ont mis en évidence des effets contraires ; les PCB seraient promoteurs :

- de tumeurs hépatiques déterminées par l'hexachlorobenzène (ITO et Coll, 1973) (41) ; par le diméthylnitrosamine (NISHIZUMI, 1979) (65), (PRESTON, 1980) (71-72) ;

- de nodules hyperplasiques induits par le N2 acétylaminofluorène (ITO, 1975) (42).

Les PCB sont alors considérés comme des cancérogènes épigénétiques et agissent selon les deux mécanismes suivants :

- en favorisant l'activation métabolique nécessaire aux procancérigènes pour se transformer en cancérigènes ultimes (rôle d'inducteur enzymatique) ;

- en créant une immunodépression déterminant des conditions d'échappement de la tumeur à la surveillance immunologique, notamment en diminuant les populations de macrophages et de lymphocytes T responsables de l'immunité à médiation cellulaire. Il serait souhaitable de déterminer le rôle des PCB sur les cellules NK et sur la production des médiateurs cellulaires (lymphokines, monokines).

Certains auteurs avaient tenu pour responsables de cette activité promotrice les impuretés (PCDF), contenues dans les mélanges de PCB ; mais une étude récente de PRESTON et Coll (71-72) a permis de prouver que les effets promoteurs étaient dus aux seuls composants PCB ; en effet, en comparant les effets promoteurs de l'hépatocarcinogénicité de la diéthylnitrosamine (DENA), de l'Arôchlor 1254 et de l'Arôchlor 1254 débarrassé de ses impuretés, ils ont obtenu les résultats suivants :

.../...

- lot témoin de 40 rats : pas de tumeur ;
- lot ayant reçu 50 ppm de diéthylnitrosamine durant 5 semaines : 42 % de tumeurs ;
- lot ayant reçu 100 ppm d'Arochlor 1254 : pas de tumeurs ;
- lot ayant reçu 100 ppm d'Arochlor 1254 sans impuretés : pas de tumeurs ;
- lot ayant reçu 50 ppm de DENA puis 100 ppm d'Arochlor 1254 : 97 % de tumeurs ;
- lot ayant reçu 50 ppm de DENA puis 100 ppm d'Arochlor 1254 sans impuretés : 100 % de tumeurs.

Enfin, il nous faut souligner l'importance du choix de l'espèce animale ; nous avons pu constater que la souris est particulièrement résistante aux effets toxiques des PCB administrés dans l'alimentation, comparativement aux autres espèces comme le rat et le cobaye. Des doses considérables de PCB n'entraînent que des modifications mineures concernant la consommation alimentaire et le poids du foie ; 250 ppm constitue encore une dose subclinique chez la souris alors que cette dose entraîne rapidement la mort d'oiseaux et de singes. Il est bien difficile, à partir des données actuelles de dire d'où provient la résistance de la souris aux PCB. La comparaison avec les autres espèces est délicate ; en effet, il faut tenir compte du PCB utilisé, de son degré de chloration, de la présence ou non d'impuretés toxiques (les polychlorodibenzofurannes), de la dose administrée, de la durée de contamination. On s'oriente cependant vers des phénomènes d'ordre métabolique : les souris formeraient moins de métabolites réactifs dangereux, les arènes-oxydes, que les autres espèces.

En conclusion, ce travail nous a permis de constater que l'action des PCB n'est pas univoque ;

- Ce sont de faibles cancérogènes. Les PCB pourraient être à la fois des carcinogènes génotoxiques, grâce à la propriété que possèdent leurs métabolites de se fixer à l'ADN par une liaison covalente, et des cancérogènes épigénétiques en favorisant la croissance tumorale de tumeurs chimio-induites. Les différences de susceptibilités vis-à-vis du pouvoir cancérogène des PCB selon le sexe, l'âge et l'espèce animale sont dues à la très grande variété des enzymes impliquées dans la biosynthèse et le métabolisme secondaire de ces composés.

- A l'égard de tumeurs chimio-induites ou viro-induites, les PCB peuvent d'une part, entraîner une diminution de l'activité cancérogène en favorisant la biosynthèse d'enzymes de dégradation ou de conjugaison, en inhibant

bant certaines enzymes nécessaires à la croissance tumorale, - ou - et en altérant la réponse immunitaire de l'hôte ;

d'autre part, les PCB peuvent aussi augmenter la croissance tumorale, probablement en stimulant la formation de métabolites réactifs ou - et - en altérant la réponse immunitaire de l'hôte. Ceci souligne l'importance capitale des facteurs de variation en matière de cancérogénèse chimique, facteurs tenant à l'hôte (espèce, souche, âge, sexe, ...) et aux substances étudiées (dose, rythme et voie d'administration, association avec d'autres substances, ...).

Enfin, la notion de PCB immunodépresseurs doit être nuancée : nous avons vu, en effet, que les PCB dans certains protocoles, peuvent augmenter certaines réponses immunitaires notamment renforcer la lutte anti-tumorale. C'est pourquoi nous proposons de ne plus appeler les PCB immunodépresseurs mais de les regrouper sous le terme d'immunomodulateurs.

CONCLUSIONS

La première partie de ce travail, purement bibliographique, présente les données générales sur les polychlorobiphényles (PCB), concernant leur structure, leurs propriétés, leurs applications industrielles, leur devenir dans les milieux naturels et dans l'organisme, et surtout les différents aspects de leur toxicité.

La seconde partie rappelle les mécanismes de l'immunité antitumorale.

Enfin, dans la troisième partie, expérimentale, nous avons étudié d'une part, les effets cancérogènes propres des PCB en observant l'apparition de tumeurs chez la souris après 120 jours de traitement par le DP 5, d'autre part les effets de la contamination par le DP 5 sur la sensibilité de la souris à la tumeur liquide d'ERLICH.

Nos observations nous ont permis de constater que l'action des PCB n'est pas univoque, en matière de cancérogénèse :

- le DP 5 s'est révélé cancérogène chez la souris à la concentration de 250 ppm dans l'aliment ; toutes les souris de ce lot ont développé un carcinome hépatocellulaire ;
- le DP 5 a entraîné la régression de la croissance de la tumeur liquide d'ERLICH chez les souris ayant reçu 10 et 50 ppm de ce mélange de PCB dans leur alimentation durant 120 jours.

Ainsi donc, les PCB, qui sont cancérogènes et immunodépresseurs, s'avèrent être des agents antitumoraux, comme l'ont montré nos travaux et diverses études effectuées sur ce sujet au cours de ces dernières années.

Vu,
LE DIRECTEUR
de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,

LE PROFESSEUR RESPONSABLE
de l'École Nationale Vétérinaire,

Vu,
LE DOYEN,

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 16 MARS 1981
l'Administrateur provisoire
de l'Université LYON I

J. GERMAIN

- BIBLIOGRAPHIE -

- 1 - ALBRO P.W., FISHBEIN L. :
Intestinal absorption of PCB in rats.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1972, 8, 26-31.
- 2 - ALLEN J.R. :
Response of the non human primate to PCB exposure.
Federation Proceedings, 1975, 34 (8), 1675-1679.
- 3 - ALLEN J.R., ABRAHAMSON L.J. :
Response of rats exposed to PCB for 52 weeks. II - Compositionnal and enzymatic changes in the liver.
Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1979, 8 (2), 192-200.
- 4 - ALLEN J.R., BARSOTTI D.A. :
The effects of transplacental and mammary movement of PCB's on infant rhesus monkeys.
Toxicology, 1976, 6, 331-340.
- 5 - ALLEN J.R., NORBACK D.H., HSU I.C. :
Tissue modifications in monkeys as related to absorption, distribution and excretion of PCB.
Arch. Environ. Contam. Bull., 1974, 2 (1), 86-95.
- 6 - BAHN A.K., ROSENWAIKE I., HERRMAN N., CROVER P., STELLMAN J., O' LEARY K. :
Melanoma after exposure to PCB's.
New Engl., J. Med., 1976, 295, 450-456.
- 7 - BASTOMSKY C.H. :
Goitres in rats fed polychlorinated biphenyls.
Can. J. Physiol. Pharmacol., 1977, 55, 288-292.
- 8 - BENTHE H.F., SCHMOLDT A., SCHMIDT M. :
Induction of microsomal liver enzymes after PCB and following stress.
Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1972, 29, 97-106.
- 9 - BERNARDET J.F. :
Effets immunologiques de la contamination par les polychlorobiphényles (PCB) : étude de leur action sur la sensibilité de la souris à une infection grippale expérimentale.
Thèse de Doctorat Vétérinaire, 6 Mai 1980, LYON.
- a - BLUS L.J. et al. :
Residues of organochlorines and heavy metals in tissues and eggs of brown pelicans, 1969-1973.
Pestic. Monit. J., 1977, 11 (1), 40-49.

- 10 - BRIGGS D.M., HARRIS J.B. :
PCB influence on hatchability.
Poultry Science, 1973, 52 (4), 1291-1294.
- 11 - BRUCKNER J.V. et al. :
The influence of ingestion of environmentally encountered levels of a commercial PCB mixture (Aroclor 1254) on drug metabolism in the rat.
J. Pharmacol. Exp. ther., 1977, 202 (1), 22-31.
- 12 - BURSE V.H., MOSEMAN R.F., SOVOCOOL G.W., VILLANUEVA E.C. :
PCB metabolism in rats following prolonged exposure to Aroclor 1242 and 1016.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1976, 15 (1), 122-128.
- 13 - BUTSCHAK G., TEICHMANN B., SCHENNIG G., ZIEBARTH D. :
The action of PCB (Kanechlor 500 and Delor 106) and 3-methylcholanthrene on the activity of some microsomal enzymes of the rat liver.
Acta. Biol. Med. Germ., 1978, 37 (7), 969-977.
- 14 - CECIL H.C., HARRIS S.J., BITMAN J., FRIES G.F. :
PCB induced decrease in liver Vit. A in Japanese Quail and rats.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1973, 9 (3), 179-185.
- 15 - CECIL H.C., HARRIS S.J., BITMAN J. :
Effects of PCB and PCT and PBB on pentobarbital sleeping times of Japanese Quail.
Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1975, 3 (2), 183-192.
- 16 - CECIL H.C., HARRIS S.J., BITMAN J. :
Liver mixed function oxidases in chickens : induction by PCB and lack of induction by DDT.
Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1975, 7 (3), 283-292.
- 17 - CHAMBON P., CHAMBON R. :
Etude de micropolluants d'origine industrielle. I. Les polychlorobiphényles.
LYON Pharm., 1973, 24 (2), 185-190.
- 18 - CHEN T.S., DUBOIS K.P. :
Studies on the enzyme inducing effect of PCB.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1973, 26, 504-512.
- 19 - COLLINS W.T., et al. :
Effect of PCB on the thyroid gland of rats.
Am. J. Pathol., 1977, 89 (1), 119-136.
- 20 - CONRADT P., et al. :
Incorporation of (³H) uridine into RNA under the influence of dieldrin and PCB.
Ecotoxicol. Environ. Saf., 1977, 3 (1), 10-17.

- 21 - Mc. CORMACK, et al. :
Concomitant diet any exposure to PCB and PBB : tissue distribution and arylhydrocarbon hydroxylase activity in lactating rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1979, 47 (1), 95-104.
- 22 - COUVILLON J.L., EARL E.L., VAN LOON E.J. :
Toxicodynamics of PCB 1254 in the Beagle dog and miniature swine.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1974, 29 (1), Abstract N° 73.
- 23 - DELONG R.L., et al. :
Premature births in California sea lions : association with high organochlorine pollutant residue levels.
Science, 1973, 181 (4105), 1168-1170.
- 24 - DESI I., et al. :
Immunosuppressive effects of chlorinated hydrocarbones and organophosphate pesticide application.
Egeszeghidomány, 1976, 20 (4), 358-368.
- 25 - DORE J.F. :
Immunologie des tumeurs.
Cours du C.E.S. d'Immunologie Générale (U.E.R. Biologie Humaine LYON), 1980-1981.
- 26 - DULBECO R. :
La biologie du cancer.
La Recherche, 1979, 100 (10), 434-442.
- 27 - FELT G.R., et al. :
Chronic toxicity of 2, 5, 4' trichlorobiphenyl in young rhesus monkeys. I. Body distribution, elimination and metabolims.
Toxicol. appl. pharmacol., 1977, 41 (3), 619-627.
- 28 - FRIEND M., TRAINER D.O. :
Polychlorinated biphenyl : interaction with duck hepatitis virus.
Science, 1970, 170 (12), 1315-1317.
- 29 - FRIES G.F., et al. :
Long-term studies of residue retention and excretion by cows fed a PCB (Aroclor 1254).
J. Arg. Food chem., 1973, 21, 117-121.
- 30 - FUJIWARA M., KURIYAMA K. :
Effect of PCB on L-ascorbic acid, pyridoxal phosphate and riboflavin contents in various organs and on hepatic metabolism of L-ascorbic acid in the rat.
Japan J. Pharmacol., 1977, 27, 621-627.
- 31 - GOTO M., HIGUCHI K. :
The symptomatology of Yusho (PCB poisoning) in dermatology.
Fuoka Acta Med., 1969, 60, 409-431.

- 32 - HANSEN L.G., et al. :
Effect of a PCB mixture on swine reproduction and tissue residues.
Am. J. of Vet. Res., 1975, 36 (1), 23-26.
- 33 - HANSEN L.G., WILSON D.W., BYERLY C.S. :
Effects on growing swine and sheep of two PCB.
Am. J. of VET. Res., 1976, 37 (9), 1021-1024.
- 34 - HARRIS S.J., CECIL H.C., BITMAN J., LILLIE R.J. :
Antibody response and reduction in burse of fabricius and spleen weights.
Poultry Science, 1976, 55 (5), 1933-1940.
- 35 - HATTULA M.L., KARLOG O. :
Absorption and elimination of PCB in goldfish.
Acta Pharmacol. Toxicol., 1973, 82, 237-245.
- 36 - HENDRICKS J.D., PUTNAM T.P., BILLS D.D., SIMNHUBER R.O. :
Inhibitory effect of a PCB mixture (Arochlor 1254) on Aflatoxin B₁ carcinogenesis in rainbow-trout (*Salmo Gardneiri*).
J. Natl. Cancer Inst., 1977, 59 (5), 1545-1551.
- 37 - HOLLEMAN K.A., BARNETT B.D., WICKER G.W. :
Response of chicks and turkey poults to Aroclor 1242.
Poultry Science, 1976, 55 (6), 2354-2356.
- 38 - HOLUB J.B., PIERKARSKI J., NILSSON K. :
The effect of a PCB (2, 4, 2', 4' - tetrachlorobiphenyl) on lipidsynthesizing enzymes in rat liver microsomes.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1975, 14 (4), 415-421.
- 39 - IARC :
Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemical to man ; somme organo-chlorine pesticides.
1974, 5.
- 40 - IARC :
Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemical to humans. Polychlorinated biphenyls and Polybrominated biphenyls.
1978, 18.
- 41 - ITO N., NAGASAKI H., ARAI M., MAKUIRA S., SUGIHARA S., HIRAO K. :
Histopathologic studies on liver tumorigenesis induced in mice by technical polychlorinated biphenyls and its promoting effect on liver tumors induced by benzene hexachloride.
J. Natl. Cancer Inst., 1973, 51, 1637-1646.
- 42 - ITO N., NAGASAKI H., MAKIURA S., ARAI M. :
Histopathological studies on liver tumorigenesis in rats treated with polychlorinated biphenyls.
Gann, 1974, 65, 545-549.

- 42 a - ITO N., TATEMATSU M., HIROSE M., NAKANISHI K., MURASAKI G. :
Enhancing effect of chemical on production of hyperplastic liver nodules induced by
N-2- hepatectomized rats.
Fluorenylacetamide in Gann, 1978, 69 (1), 143-144.
- 43 - JERINA D.M., DALY J.W. :
Arene oxides : a new aspect of drug metabolism.
Science, 1974, 105, 4151-4153.
- 44 - KECK G. :
Etude écologique et toxicologique d'un micropolluant type : les PCB.
Rev. Méd. Vét., 1977, 128 (1), 25-49.
- 45 - KECK G., RAFFENOT J. :
Etude éco-toxicologique de la contamination clinique par les PCB dans la rivière du
Furans (Ains).
Rev. Méd. Vét., 1979, 130 (3), 339-358.
- 46 - KECK G., DELATOUR P., PAPAGEORGIOU C., RICHARD Y., GASTELLU J. :
Etude des effets immunologiques des PCB chez la souris.
Communication personnelle. Ecole Nationale Vétérinaire de LYON.
- 47 - KEPLINGER M.L., FANCHER O.E., CALANDRA J.C. :
Toxicology studies with polychlorinated biphenyls.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1971, 19, 402-403.
- 48 - KERVLIIET N.I., KINELDORF D.J. :
Inhibition of tumor growth in rats by feeding a PCB, Aroclor 1254.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1977, 18 (2), 243-246.
- 49 - KERVLIIET N.I., KINELDORF D.J. :
Antitumor activity of a PCB mixture, Aroclor 1254, in rats inoculated with Walker
256 carcinoma cells.
J. Nat. Cancer Inst., 1977, 59 (3), 951-955.
- 50 - KINBROUGH R.D., LINDER R.E., GRAINES T.B. :
Morphological changes in livers of rats fed PCB.
Arch. Environ. Health., 1972, 25, 354-364.
- 51 - KURATSUNE M. :
An abstract of result of laboratory examinations of patients with Yusho and of ani-
mal experiments.
Environ. Health Perspect., 1972, 1, 129-136.
- 52 - KURATSUNE M. :
Epidemiologic studies on Yusho.
Higuchi K., Ed., PCB Poisoning and Pollution, Tokyo, 1976, Kodansha Ltd, 9-23.

- 53 - KURATSUNE H., MASUDA U., NAGAYAMA J. :
Some of the recent findings concerning Yusho. Proceedings of the National Conference
on Polychlorinated Biphenyls.
Chicago, 1976, Environmental Protection Agency, 14-29.
- 54 - LEE T.P., PARK B.H. :
Biochemical basis of Arochlor 1254 and pesticide toxicity in vitro. I. Effects of
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 1979, 25 (3), 597-605.
- 55 - LEVY J.P. :
In BACH J.F., Immunité antitumorale.
Flammarion Medecine-Sciences, 1979, 14, 401-420.
- 56 - LILLIE R.J., CECIL H.C., BITMAN J., FRIES G.F. :
Toxicity of certain PCB and PBB on reproductive efficiency of caged chickens.
Poultry Science, 1975, 54 (5), 1550-1555.
- 57 - LOOSE L.D., SILKWORTH J.B., PITTMAN K.A. :
Impaired host resistance to endotoxin and malaria in PCB and HCB treated mice.
Infect. Immun., 1978, 20 (1), 30-35.
- 58 - Mc CAIN B.B., PIERCE K.V., WELLINGS S.R., MILLER B.S. :
Hepatomas in marine fish from an urban estuary.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1977, 18 (1), 1-3.
- 59 - MAKIURA S., AOE H., SUGIHARA :
Inhibitory effect of PCB's on liver tumorigenesis in rats treated with 3' methyl
4 dimethylaminobenzene, N2 fluorenylacetamide and dimethylnitrosamine.
J. Natl. Cancer Inst., 1974, 53, 1253-1257.
- 60 - MASUDA Y., HAGAWA R., TOKUDOME S., KURATSUNE N. :
Transfer of PCB to the fetuses and offspring of mice.
Food Cosmet. Toxicol., 1978, 16, 33-37.
- 61 - METCALF R.L. :
Laboratory model ecosystem evaluation of the chemical and biological behavior of
radiolabeled micropollutants.
Environ. Qual. Safety, 1976, 5, 141-151.
- 62 - MINIATS O., PLATONOW N.S., GEISSINGER M.D. :
Experimental PCB toxicosis in germfree pigs.
Canadian J. of comparative Med., 1978, 42 (2), 192-199.
- 63 - MULLER W.F., HOBSON W., FULLER G.B., COULSTON F., KORTE F. :
Endocrine effects of chlorinated hydrocarbons in rhesus monkeys.
Ecotoxicol. Environ. Saf., 1978, 2 (2), 161-172.

- 64 - NAGAO S., HOSOYA M. :
Distribution of C^{14} -labelled PCB and BHC in the Japanese Quail by whole body autoradiography.
Acta. Pharmacol. and Toxicol., 1977, 41, 146-147.
- 65 - NISHIZUMI M. :
Effect of phenobarbital, dichlorodiphenyltrichloroethane and PCB on diethylnitrosamine - induced hepatocarcinogenesis.
Gann, 1979, 70 (6), 835-837.
- 66 - NISHIZUMI M. :
Acute toxicity of polychlorinated dibenzofurans in CF-1 mice.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1978, 45 (1), 209-212.
- 67 - OISHI S., MORITA M., FUKUDA M. :
Comparative toxicity of PCB's and PCDF's in rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1978, 43, 12-22.
- 68 - O.M.S., Rapport de GENEVE - 1977 :
Critères d'hygiène de l'environnement. 2 polychlorobiphényles et polychloroterphényles.
- 69 - PETERSON R.E., SEYMOUR J.L., ALLEN J.R. :
Distribution and biliary excretion of PCB's in rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1976, 38, 609-619.
- 70 - PLATONOW M., CHEN N.Y. :
Transplacental transfer of PCB (Arochlor 1254) in a cow.
Vet. Rec., 1973, 92, 69-70.
- 71 - PRESTON D., VAN MILLER J.P., ROOCE R.W., ALLEN J.R. :
Dibenzofuran-free Arochlor 1254 as a promoter of diethylnitrosamine (DNA) ; hepatocarcinogenesis in rats.
In proceedings of the American Association for Cancer Research, 1979, 20 (4), abstract N° 616, 153.
- 72 - PRESTON D. :
Metabolically-mediated binding of 2, 2', 5, 5' -Tetrachlorobiphenyl (TCB) to DNA, RNA, and protein In Vivo and In Vitro.
Proceedings of the American Association for Cancer Research, 1980, 21 (4), abstract N° 27, 7.
- 73 - RAFFENOT J. :
Les PCB et leur comportement dans un écosystème de rivière : le Furans (Ain).
Thèse de Doctorat de 3ème cycle, 1979, LYON.
- 74 - RIVIERE J.L., DE LAVAU E., GROLLEAU G. :
Effect of PCB on drug metabolism in Japanese Quails and its progeny.
Toxicology, 1978, 11 (4), 329-334.

- 75 - SAFE S., et al. :
Metabolism : detoxification of toxification.
In "Aquatic Pollutants : transformation and biological effects".
Pergamon Press, 1978.
- 76 - SAFE S., HUTZINGER O., JONES D. :
The mechanism of chlorobiphenyl metabolism.
J. Agric. Food Chem., 1975, 23 (5), 851-853.
- 77 - SANDERS H.O., CHANDLER J.M. :
Biological magnification of a PCB (Aroclor 1254) from water by aquatic invertebrates.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1972, 7 (2), 257-263.
- 78 - SASCHENBRESCKER P.W., et al. :
Persistence of PCB in the milk of exposed cows.
Vet. Rec., 1972, 90, 100-102.
- 79 - SAVAGE E.P., et al. :
Organochlorine pesticide residues and PCB in human milk.
Pest. Monit. J., 1973, 7 (1), 1-5.
- 80 - SCHMOLDT A., et al. :
Rat liver changes after subchronic exposition to PCB of low chlorine contents.
Arch. Toxicol., 1977, 37 (3), 203-217.
- 81 - SCHWARTZ E.L., KLUWE W.M., SLEIGHT S.D., HOOK J.B., GOODMAN J.I. :
Inhibition of N-2- Fluorenylacetamide. Induced mammary tumorigenesis in rats by dietary polychlorinated biphenyls.
J. Natl. Cancer Inst., 1980, 64 (1), 63-67.
- 82 - SHIGEMATSU, et al. :
Clinical and experimental studies on respiratory involvement in chlorobiphenyls poisoning.
Fukuoka Acta Med., 1971, 62 (1), 150-156.
- 83 - SHIGEMATSU, et al. :
Respiratory involvement in PCB poisoning.
Environ. Res., 1978, 16, 92-100.
- 84 - SIVAJARAH K., FRANKLIN C.S., WILLIAMS W.P. :
Some histopathological effects of Aroclor 1254 on the liver and gonads of rainbow trout, *Salmo Gardneri* and carp, *Cyprinus Carpio*.
J. Fish Biol., 1978, 13 (4), 411-414.
- 85 - SIVAJARAH K., FRANKLIN C.S., WILLIAMS W.P. :
Effect of PCB on plasma steroid levels and hepatic microsomal enzymes in fish.
J. Fish Biol., 1978, 13 (4), 415-418.

- 86 - SODERGREN A. :
Transport, distribution and degradation of chlorinated hydrocarbon residues in aquatic model ecosystems.
Oikos, 1973, 22 (1), 24-30.
- 87 - SOLLÝ S.R., et al. :
Effects of PCB on poultry - Residues in tissues and eggs.
New Zealand J. of Agricultural Res., 1976, 19 (2), 225-229.
- 88 - TAGAKI, et al. :
Studies on the transfer and distribution of (C¹⁴) PCB's from paternal to fetal and suckling rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1975, 32, 587-592.
- 89 - TATSUKAWA R., WATANABE I. :
Air pollution by PCB's.
Shoku No Kagaku, 1972, 8, 55-63.
- 90 - THOMAS L., BURNETT F.M. :
Immunological surveillance.
Pergamon Press, 1970.
- 91 - THOMAS P.T., HINSDELL R.O. :
Effects of PCB's on the immune responses of rhesus monkeys and mice.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1978, 44, 41-51.
- 92 - TREON J.F., CLEVELAND F.P., CAPEL J.W., ATCHLEY R.W. :
The toxicity of the vapours of Arochlor 1242 and Arochlor 1254.
Am. Ind. Hyg. Assoc. Quart., 1956, 17, 204-213.
- 93 - UCHIYAMA M., CHIBA T. :
Co-carcinogenic effect of DDT and PCB feedings on methyl cholanthracene - induced chemical carcinogenesis.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1974, 12, 687-693.
- 94 - VOS J.G. :
Toxicological of PCB's for mammals and for birds.
Environ. Health Perspect., 1972, 1, 105-117.
- 95 - VOS J.G., KOEMAN J.M. :
Comparative toxicologic study with PCB in chickens with special reference to prophyria, edema formation, liver necrosis and tissue residues.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1970, 17, 656-668.
- 96 - VOS J.G., KOEMAN J.M., VAN DER MAAS H.L. :
Identification and toxicological evaluation of chlorinated dibenzofuran and chlorinated naphthalene in two commercial PCB's.
Food Cosmet. Toxicol., 1970, 8, 625-633.

- 97 - VOS J.G., BEEMS R.B. :
Dermal toxicity studies of technical polychlorinated biphenyls and fractions thereof in rabbits.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1971, 19, 617-633.
- 98 - VOS J.G., MOORE J.A. :
Suppression of cellular immunity in rats and mice by maternal treatment with 2, 3, 7, 8 - tetrachlorodibenzo-p-dioxin.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 1974, 47, 777-794.
- 99 - VOS J.G., STIK J.J., VAN HOLSTEYN C.W.M., PENNINGS J.K. :
PCB as Inducers of hepatic porphyria in Japanese Quail with special reference to aminolevulinic Acid Synthetase activity, fluorescence, and residues in the liver.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1971, 20, 232-240.
- 100 - VOS J.G. :
Hyperkeratosis in cattle due to contamination of rubber mats by chlorinated naphthalenes and PCBs.
Tijdschrift voor Diergeneeskunde, 1971, 96, 1577-1586.
- 101 - VOS J.G., NOTENBOOM-RAM E. :
Comparative toxicity study of 2, 4, 5, 2', 4', 5', hexachlorobiphenyl and a PCB mixture in rabbits.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1972, 23, 563-578.
- 102 - VOS J.G., LIDEKE VAN DRIEK GROOTENKINS :
PCB induced suppression of the humoral and cell-mediated immunity in Guinea pigs.
The Science of the total Environ., 1972, 1 (8), 289-295.
- 103 - VOS J.G., DE ROIJ T.H. :
Immunosuppressive activity of a PCB preparation on the humoral immune response in Guinea pigs.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1972, 21, 549-555.
- 104 - VOS J.G. :
Immune suppression as related to toxicology.
C.R.C. Critical Reviews in Toxicology, Mai 1977, 67-99.
- 105 - WEISBURGER J.H., WILLIAMS G.M. :
Cancérogènes génotoxiques et épigénétiques.
Dans tests courts de cancérogénèse : Quo Vadis ?
(Colloque 5-6 Février 1981 à MONTPELLIER), 12.
- 106 - YAKUSHIJI T., TANAKA R., KUNITA M. :
PCB and organochlorine pesticides in mother's milk, blood and foods.
Paediatrician, 1977, 6 (1), 28-33.

- 107 - YOSHIMURA H., YAMAMOTO H. :
Metabolic studies on PCB. I. Metabolic fate of 3, 4, 3'? 4', tetrachlorobiphenyl in rats.
Chem. Pharm. Bull., 1973, 21, 1168-1169.
- 108 - ZAJDELA F. :
Problèmes posés par le phénomène de promotion.
Dans tests courts de cancérogénèse : Quo Vadis ?
(Colloque 5-6 Février 1981 à MONTPELLIER), 13.

